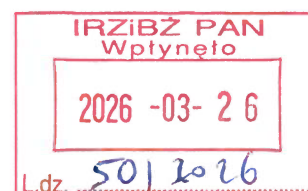


Dr hab. Dariusz Gączarzewicz, prof. ZUT
Katedra Biotechnologii Rozrodu Zwierząt i Higieny Środowiska
Wydział Biotechnologii i Nauk o Zwierzętach
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie



Recenzja osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego dr Agnieszki Mostek-Majewskiej sporządzona w związku z wnioskiem z dnia 12 sierpnia 2025 r. o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo

Podstawa prawna i formalna sporządzenia recenzji

Podstawą przygotowania niniejszej recenzji jest pismo Pani Sekretarz Komisji Habilitacyjnej – dr hab. n. med. Anny Szóstek-Mioduchowskiej, prof. Instytutu, z dnia 22 stycznia 2026 r. o powołaniu mojej osoby przez Radę Naukową InLife Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk na recenzenta w prowadzonym zgodnie z przepisami ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z późn. zm.) postępowaniu habilitacyjnym dr Agnieszki Mostek-Majewskiej. Recenzja została sporządzona na podstawie przedstawionej przez Habilitantkę dokumentacji, dostarczonej mi w formie elektronicznej (nośnik USB; 28.01.2026 r.), w szczególności: wniosku habilitacyjnego, autoreferatu, wykazu dorobku naukowego stanowiącego wkład w rozwój dyscypliny oraz publikacji naukowych wskazanych jako osiągnięcie naukowe będące podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Informacje ogólne o Kandydatce

Dr Agnieszka Mostek-Majewska jest absolwentką Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Studia wyższe zakończyła w 2009 r. uzyskaniem tytułu magistra biotechnologii w specjalności biotechnologia przemysłowa na podstawie pracy dyplomowej pt. „Inhibitory proteaz jako alergeny pokarmowe”, którą wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Lucjana Jędrychowskiego. Po ukończeniu studiów magisterskich Kandydatka przystąpiła do realizacji studiów doktoranckich w Katedrze Biochemii Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. W trakcie ich trwania nawiązała współpracę z pracownikami Wydziału Biologii Uniwersytetu Hamburgskiego, dzięki

której w 2010 (01.09-01.12) oraz w 2011 (01-20.06) roku odbyła dwa staże naukowe w ramach Europejskiego Programu Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych (COST Action FA0901 oraz COST Action FA0603).

W 2014 r. dr Agnieszka Mostek-Majewska podjęła zatrudnienie w Zakładzie Biologii Gamet i Zarodka Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie na stanowisku specjalisty. Dwa lata później obroniła pracę doktorską przygotowaną pod kierunkiem prof. dr hab. Stanisława Weidnera pt. „Zmiany w proteomach korzeni jęczmienia pod wpływem stresu solnego łagodzonego przez kwas β -aminomasłowy”. Na podstawie pozytywnego wyniku obrony, uchwałą Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 27 października 2016 r., Agnieszce Mostek-Majewskiej nadano stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biologii i biochemii. Rozprawa doktorska została wyróżniona przez Rektora Uczelni.

Po uzyskaniu stopnia doktora Pani Agnieszka Mostek-Majewska kontynuowała zatrudnienie w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie, gdzie od 2018 r. objęła stanowisko adiunkta w Zakładzie Biologii Gamet i Zarodka. Z tym wiodącym ośrodkiem naukowym do chwili obecnej ściśle związana jest również droga kariery naukowej Habilitantki.

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako wyodrębnione osiągnięcie naukowe stanowiące znaczny wkład w rozwój dyscypliny zootechnika i rybactwo dr Agnieszka Mostek-Majewska wskazała siedem oryginalnych prac badawczych przedłożonych jako dwa powiązane ze sobą tematycznie cykle publikacji, które zatytułowała „**Rola peroksyredoksyn i modyfikacji oksydacyjnych w regulacji kapacytacji oraz przeżywalności plemników buhaja**” (osiągnięcie I, cztery prace: IA–ID) i „**Wpływ kriokonserwacji, seksowania i jakości ejakulatów na proteomiczny i oksydacyjny profil nasienia buhaja**” (osiągnięcie II, trzy prace: IIA–IIC). W skład obu cykli publikacji wchodzi następujące prace (ich oznaczenie nawiązuje do numeracji zastosowanej w autoreferacie osiągnięcia naukowego przygotowanego przez Kandydatkę i ma na celu wyeliminowanie w dalszej części tekstu recenzji zbędnych przywołań w postaci notek bibliograficznych):

IA. **Mostek-Majewska A.**, Bossowska-Nowicka M., Słowińska M., Ciereszko A. PRDX5 and PRDX6 translocation and oligomerization in bull sperm: a response to cryopreservation-induced oxidative stress. *Cell Communication and Signaling* 2025, 23:15

IB. **Mostek-Majewska A.**, Majewska A., Janta A., Ciereszko A. New insights into posttranslational modifications of proteins during bull sperm capacitation. *Cell Communication and Signaling* 2023, 21:72

IC. **Mostek-Majewska A.**, Janta A., Majewska A., Ciereszko A. Effect of 2-Cys peroxiredoxins inhibition on redox modifications of bull sperm proteins. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, 22:12888

ID. **Mostek A.**, Janta A., Majewska A., Ciereszko A. Bull sperm capacitation is accompanied by redox modifications of proteins. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, 22:7903

IIA. **Mostek A.**, Janta A., Ciereszko A. Proteomic comparison of non-sexed and sexed (X-bearing) cryopreserved bull semen. *Animal Reproduction Science* 2020, 221:106552

IIB. **Mostek A.**, Westfalewicz B., Słowińska M., Dietrich M., Judycka S., Ciereszko A. Differences in sperm protein abundance and carbonylation level in bull ejaculates of low and high quality. *PLoS One* 2018, 13(11): e0206150

IIC. **Mostek A.**, Dietrich M.A., Słowińska M., Ciereszko A. Cryopreservation of bull semen is associated with carbonylation of sperm proteins. *Theriogenology* 2017(92): 95-102

Powyższe prace zostały opublikowane w latach 2017-2025 w czasopismach umieszczonych w bazie *Journal Citation Reports (JCR)* indeksowanych wskaźnikiem *impact factor (IF)* (*Cell Communication and Signaling* IF = 8,2; *International Journal of Molecular Sciences* IF = 6,208; *Animal Reproduction Science* IF = 2,145; *PLoS One* IF = 2,776; *Theriogenology* IF = 2,136). Sumaryczny wskaźnik oddziaływania dla tych prac zgodnie z rokiem ich publikacji wynosi 35,873, natomiast całkowita wartość punktowa artykułów według wykazu czasopism naukowych MNiSW wynosi 940 punktów. Powyższe publikacje stanowią opracowania wieloautorские (od 3 do 6 współautorów), w których Habilitantka jest pierwszym autorem oraz pełni funkcję autora korespondencyjnego. Załączone do wniosku oświadczenia wszystkich współautorów wskazują, że prace te powstały przy wiodącym udziale Kandydatki obejmującym między innymi wytyczenie koncepcji badań, pozyskanie środków finansowych na realizację niektórych z nich (IA, IB, IIA), przygotowanie metodyki

i przeprowadzenie większości analiz w badaniach, opracowanie i interpretację wyników, oraz napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku.

Wskazany przez dr Agnieszkę Mostek-Majewską celem głównym prac wchodzących w skład obu cykli publikacji była analiza mechanizmów oksydacyjnych modyfikacji białek w plemnikach buhaja, ukierunkowana na identyfikację białek podatnych na tego typu zmiany oraz określenie ich roli dla utrzymania funkcjonalności plemników. Badania przeprowadzono na nasieniu buhaja, wykorzystując nowoczesne metody badawcze, między innymi komputerową analizę ruchliwości plemników (CASA), mikroskopię fluorescencyjną, cytometrię przepływową (w tym Imaging Flow Cytometry), zintegrowane metody proteomiczne łączące separację białek (2D-PAGE, 2D-DIGE), wykrywanie oksydacyjnych i posttranslacyjnych modyfikacji (2D-oxylot, analizy redox) oraz identyfikację białek spektrometrią mas (MALDI-TOF/TOF). Zastosowanie tych technik umożliwiło pełną realizację założeń badawczych wraz z kompleksową weryfikacją właściwości nasienia i świadczy o wysokim poziomie warsztatu badawczego Kandydatki oraz umiejętności jego wykorzystania.

Problematyka badawcza pierwszego cyklu publikacji podjęta przez Habilitantkę (reprezentującą 4-osobowy zespół autorski każdej z prac) skupia się na wyjaśnieniu roli jaką odgrywają odwracalne reakcje redukcji i oksydacji białek, a także na ocenie aktywności peroksyredoksyn (PRDX) w procesie kapacytacji oraz w warunkach zaburzenia równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej w plemnikach. W publikacji IA Kandydatka zweryfikowała wpływ stresu oksydacyjnego wywołanego kriokonserwacją nasienia na wybrane białka antyoksydacyjne występujące w plemnikach – peroksyredoksynę 5 (PRDX5) i peroksyredoksynę 6 (PRDX6). W zakresie tych badań potwierdziła negatywny wpływ procesów zamrażania/rozmarzania nasienia na jego jakość przejawiający się między innymi zwiększeniem płynności błony komórkowej, obniżeniem aktywności mitochondriów, integralności genomu oraz ruchliwości plemników. Zmiany te miały ścisły związek ze wzrostem poziomu reaktywnych form tlenu (RFT) i tlenu azotu w plemnikach. Habilitantka, co jest szczególnie cenne i interesujące w aspekcie wyjaśniania mechanizmów adaptacyjnych plemników dowiodła, że po kriokonserwacji nasienia dochodzi do zmian w lokalizacji obu badanych białek, tj. przemieszczania się PRDX5 w głąb komórki a PRDX6 – głównie w obręb błony komórkowej plemników. Wykazała również, że w warunkach kriokonserwacji nasienia obie peroksyredoksyny tworzyć mogą wysokocząsteczkowe oligomery białkowe, wchodzą w interakcję z receptorem TLR4 (Toll-like receptor 4), a ponadto występują w zewnątrzkomórkowych pęcherzykach obecnych w osoczu nasienia. Wyniki te dokumentują

nowatorski charakter badań prowadzonych przez dr Agnieszkę Mostek-Majewską. Poszerzają one dotychczasową wiedzę dotyczącą potencjalnych, innych niż enzymatyczne, funkcji peroksyredoksyn w plemnikach buhaja, a także sposobów przemieszczania się tych białek zarówno w obrębie, jak i do komórki.

Znaczący wkład w rozwój badań nad molekularnymi mechanizmami regulującymi funkcjonowanie plemników stanowią także efekty pracy badawczej Kandydatki przedstawione w kolejnym artykule (IB) pierwszego cyklu publikacji. Praca ta, oparta na zastosowaniu zaawansowanych metod proteomicznych, stanowi wartościowe opracowanie poświęcone analizie potranslacyjnych modyfikacji białek (PTMs; S-nitrozylacja/denitrozylacja, S-glutathionylacja/deglutathionylacja oraz fosforylacja/defosforylacja tyrozyny) zachodzących w trakcie kapacytacji plemników. Proces kapacytacji został przeprowadzony *in vitro* w kriokonserwowanym nasieniu, a układ eksperymentalny obejmował także wariant z inhibicją PRDX. Enzymy te odgrywają kluczową rolę w regulacji ruchliwości plemników oraz w nabywaniu przez nie zdolności zapładniającej, jednak ich udział w procesie kapacytacji pozostaje nadal niewystarczająco poznany. Kandydatka wykazała, że podczas kapacytacji plemników buhaja zachodzą istotne zmiany w zakresie potranslacyjnych modyfikacji licznych białek, przy czym dominującymi procesami są denitrozylacja, deglutathionylacja oraz fosforylacja tyrozyny. Stwierdziła, że poszczególne grupy białek wykazują różne typy PTMs, między innymi białka uczestniczące w wiązaniu osłonki przejrzystej wrażliwe są głównie na modyfikacje oksydacyjne, białka szlaku cAMP/PKA na fosforylację, natomiast białka witki plemnika, czy enzymy metabolizmu energetycznego podlegają zmianom we wszystkich analizowanych typach PTMs. Innowacyjnym elementem badań Kandydatki jest wykazanie związku między aktywnością PRDX a poziomem S-nitrozylacji, S-glutathionylacji oraz fosforylacji tyrozyny w plemnikach. Hamowanie PRDX prowadziło do zwiększenia modyfikacji oksydacyjnych oraz defosforylacji białek kotwiczących kinazę A (AKAP), a także do zmian modyfikacji enzymów kluczowych dla metabolizmu energetycznego (GAPDHS, GSTO2, SOD2). Na szczególne podkreślenie zasługuje również wskazanie nowych potencjalnych markerów kapacytacji, tj. deglutathionylacji białek w obrębie obwodowych włókien gęstych witki plemnika (ODF2) oraz białek związanych z interakcją gamet (IZUMO4), co może stanowić ważny punkt odniesienia w dalszych badaniach nad funkcją plemników i fuzją plemnik–oocyt podczas zapłodnienia.

W trzeciej pracy (IC) pierwszego cyklu publikacji dr Agnieszka Mostek-Majewska podjęła problematykę dotyczącą roli peroksyredoksyn typu 2-Cys (2-Cys PRDX) w regulacji oksydacyjnych modyfikacji potranslacyjnych białek (oxPTMs) plemników buhaja. Założenia

badawcze związane z różnymi funkcjonalnymi aspektami aktywności 2-Cys PRDX zweryfikowała w nasieniu świeżym przy zastosowaniu inhibitora aktywności PRDX i po indukcji stresu oksydacyjnego w plemnikach. Przemyślany układ eksperymentalny tych badań oraz kompleksowe dobranie metodyki umożliwiły Habilitantce dokonanie nowych interesujących obserwacji w zakresie sygnalizacji redoks mechanizmów adaptacyjnych plemników. Kandydatka stwierdziła, że w warunkach braku silnego stresu oksydacyjnego (fizjologicznych/kontrolnych) zahamowanie aktywności 2-Cys PRDX na poziomie funkcjonalnym przejawia się bardzo silnym spadkiem ruchliwości plemników bez znaczącego wpływu na ich żywotność. Pełnienie funkcji antyoksydacyjnej przez te enzymy w plemnikach buhaja Habilitantka dowiodła poprzez zaobserwowany po inhibicji aktywności PRDX znaczny wzrost wewnątrzkomórkowego generowania RFT. Wykazała również i należy to podkreślić, że zahamowanie aktywności PRDX w powyżej wskazanych warunkach prowadzi do zmniejszenia poziomu oxPTMs w specyficznych białkach mitochondrialnych i białkach cytoszkieletu aktynowego, co sugeruje udział 2-Cys PRDX w regulacji oksydacji białek kluczowych dla procesów komórkowych plemnika. Za wartościowy element badań Habilitantki należy uznać ponadto wykazanie, że w warunkach stresu oksydacyjnego efekty zahamowania aktywności PRDX związane są z nasiloną oksydacją większej liczby białek, między innymi białek aksonemy, cyklu kwasów trikarboksylowych, łańcucha oddechowego oraz glikolitycznych, w tym enzymów regulujących tempo przebiegu glikolizy w plemnikach. Oksydacja enzymów kontrolujących glikolizę w plemnikach prowadzić może do przełączenia metabolizmu glukozy na szlak pentozofosforanowy, co ze względu na deficyt energetyczny (spadek produkcji ATP) skutkować może stwierdzonym przez Kandydatkę obniżeniem fosforylacji białek witki i ruchliwości plemników. Otrzymane w tym zakresie wyniki uważam za ważne w kontekście wzbogacenia wiedzy dotyczącej utrzymania równowagi oksydacyjnej w plemnikach buhaja oraz ustalania mechanizmów ich adaptacji do stresu oksydacyjnego.

Ostatnia praca z pierwszego cyklu publikacji przedstawia badania dr Agnieszki Mostek-Majewskiej, których celem było zweryfikowanie występowania odwracalnych oksydacyjnych modyfikacji potranslacyjnych białek podczas kapacytacji plemników, a także identyfikacja białek ulegających tego typu zmianom. Habilitantka do przeprowadzenia kapacytacji wykorzystwała świeże nasienie, a do oceny zaawansowania przebiegu procesu kapacytacji w populacji plemników – kompleksowo dobrane metody analityczne (między innymi barwienie chlortetracykliną, indukcję reakcji akrosomalnej lizofosfatydylocholiną, analizę poziomu fosforylacji tyrozynowej białek metodą Western blot). W badaniach wykazała, że kapacytacja plemników buhaja jest procesem związanym nie tylko ze wzrostem poziomu

fosforylacji tyrozynowej białek, ale także silnie powiązanych z odwracalnymi modyfikacjami redoks białek. Na podstawie analiz proteomicznych zidentyfikowała liczne białka podlegające tym zmianom (48 spotów białkowych odpowiadających 22 różnym białkom), które biorą udział w różnych procesach komórkowych. Stwierdziła, że należą do nich między innymi enzymy odpowiedzialne za generowanie RFT (SOD, DLD) oraz białka uczestniczące w sygnalizacji cAMP/PKA (ROPN1L, SPA17), zaangażowane w reakcję akrosomalną (ACRBP, IZUMO4), metabolizm energetyczny (ENO, ALDOA, CS, ME2, syntaza ATP, UQCR1) czy reorganizację struktur plemnika związaną z hiperaktywacją ruchu (TUBB4B, TUB1A). W mojej opinii wyniki uzyskane przez Habilitantkę w tych badaniach dostarczają szereg istotnych informacji dotyczących stanu redoks zidentyfikowanych białek i wraz z zaproponowanym w publikacji modelem interakcji molekularnych oraz szlaków sygnałowych podczas kapacytacji plemników buhaja stanowią cenny wkład w badania nad mechanizmami tego procesu.

W skład osiągnięcia naukowego wchodzi również trzy kolejne prace, które Habilitantka wyodrębniła jako wspomniany drugi cykl publikacji (IIA – IIC). Tematyka badawcza tych prac koncentruje się na identyfikacji zmian molekularnych oraz wyjaśnieniu mechanizmów prowadzących do utraty jakości nasienia podczas jego przetwarzania na potrzeby inseminacji.

Pierwsza praca cyklu (IIA) przedstawia badania podejmujące problematykę dotyczącą sortowania plemników, ważną z punktu widzenia praktyki hodowlanej ze względu na potencjalnie niższą skuteczność zapładniającą nasienia seksowanego wykorzystywanego w inseminacji. Dr Agnieszka Mostek-Majewska przeprowadziła analizę porównawczą komercyjnie dostępnego nasienia nieseksowanego i seksowanego (zawierającego co najmniej 85% plemników z chromosomem X), mającą na celu identyfikację różnic ilościowych oraz zmian oksydacyjnych w obrębie białek determinujących żywotność i zdolność zapładniającą plemników. Wykazała, że oprócz znacząco niższych wartości parametrów jakości nasienia seksowanego (ruchliwości, żywotności, aktywności mitochondriów oraz integralności akrosomów plemników) w odniesieniu do nasienia nieseksowanego, w profilach białkowych obu grup także występują istotne różnice. Opiniowana zidentyfikowała 70 białek różniących się poziomem ekspresji oraz 6 spotów białkowych różniących się stopniem karbonylacji. Stwierdziła, że zmiany dotyczą białek zaangażowanych w glikolizę, fosforylację oksydacyjną oraz odpowiedzialnych za utrzymanie równowagi energetycznej plemnika. Różnice pomiędzy nasieniem seksowanym a nieseksowanym obejmowały zmiany białek struktur witki plemnika, które w obrębie obwodowych włókien gęstych plemników sortowanych wykazywały wyższy poziom uszkodzeń oksydacyjnych. W plemnikach sortowanych Habilitantka zidentyfikowała ponadto zmiany w białkach związanych z kapacytacją, reakcją akrosomalną oraz fuzją

plemnik z oocytem. Stwierdziła również zmniejszony poziom białek powierzchniowych w plemnikach sortowanych, co może osłabiać mechanizmy ochronne plemników, prowadzić do zaburzeń w rozpoznawaniu gamet oraz nieprawidłowości w sygnalizacji komórkowej, a w konsekwencji obniżenia potencjału zapładniającego nasienia seksowanego. Uważam, że Habilitantka w przeprowadzonych badaniach dowiodła niekorzystnego wpływu jaki może wywierać proces sortowania na profil proteomiczny plemników, co pozwala na bardziej precyzyjne wyjaśnienie mechanizmów obniżonej jakości seksowanego nasienia. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że dzięki jej wnikliwie przemyślanej koncepcji badań otrzymała nowatorskie wyniki które stanowią ważny wkład w rozwój wiedzy nad biologicznymi konsekwencjami seksowania nasienia oraz mają znaczenie dla doskonalenia procedur stosowanych obecnie w biotechnologii rozrodu bydła.

Problematyki optymalizacji wydajności reprodukcyjnej buhajów dotyczą również badania przedstawione w kolejnej pracy (IIB) drugiego cyklu publikacji. Habilitantka ukierunkowała je na identyfikację molekularnych biomarkerów jakości nasienia, które mogą być przydatne w selekcji materiału wykorzystywanego w rozrodzie. Realizując założenia badawcze przeprowadziła wnikliwą analizę profilu proteomicznego oraz poziomu oksydacyjnych modyfikacji białek, ze szczególnym uwzględnieniem ich karbonylacji, mającą na celu określenia różnic pomiędzy ejakulatami o wysokiej i niskiej jakości. Kategoryzację różnicującą jakość ejakulatów wykonała na podstawie komputerowo określanych parametrów ruchu plemników, a także oceny żywotności, koncentracji plemników oraz udziału procentowego plemników wykazujących obecność RFT. Habilitantka zidentyfikowała 14 spotów białkowych odpowiadających 10 białkom różniącym się poziomem ilościowym pomiędzy analizowanymi grupami ejakulatów. Białka te związane były z metabolizmem energetycznym, aparatem ruchu plemników oraz procesami kapacytacji, zapłodnienia i detoksykacji komórkowej. Interesujące są wyniki dotyczące stwierdzenia w ejakulatach o wysokiej jakości większej ilości zewnątrzkomórkowych białek powierzchniowych, co może być związane z efektywniejszym wydzielaniem białek przez dodatkowe gruczoły płciowe i/lub najądrza. Szczególnie wartościowe jest wykazanie występowania w ejakulatach o niskiej jakości podwyższonego poziomu karbonylacji białek, a także zidentyfikowanie 14 spotów białkowych (odpowiadających 12 białkom) zróżnicowanych w obu grupach ejakulatów pod względem poziomu karbonylacji. Habilitantka stwierdziła, że białka ulegające karbonylacji zlokalizowane są głównie w mitochondriach lub w ich bezpośrednim sąsiedztwie, co wskazuje na kluczową rolę tych organelli jako miejsc generowania RFT i jednocześnie struktur szczególnie podatnych na uszkodzenia. W mojej opinii uzyskane wyniki przyczyniają się do

lepszego zrozumienia molekularnych uwarunkowań jakości nasienia buhaja i pozwalają na bardziej precyzyjne wyjaśnienie złożonych zależności między uszkodzeniami oksydacyjnymi białek a utratą zdolności funkcjonalnych plemnika. Uważam, że te które zidentyfikowała dr Agnieszka Mostek-Majewska można rozpatrywać jako potencjalne biomarkery jakości nasienia oraz jego przydatności do kriokonserwacji.

Ostatnia praca (IIC) drugiego cyklu publikacji przedstawia badania, w których Habilitantka określiła wpływ kriokonserwacji nasienia buhaja na oksydacyjne modyfikacje białek plemników. Mając na uwadze, że procedura zamrażania i rozmrażania nasienia może indukować istotne zmiany oraz uszkodzenia funkcjonalne i strukturalne plemników, związane między innymi z produkcją RFT, przeprowadziła identyfikację białek podlegających karbonylacji oraz porównała ich poziom w nasieniu świeżo rozcieńczonym i kriokonserwowanym. Wykazała, że po rozmrożeniu nasienia znacząco obniża się żywotność oraz ruchliwość plemników, w tym niektóre parametry kinematyczne ich ruchu (między innymi VCL, VAP, BCF), istotnie wzrasta odsetek plemników wykazujących RFT (średnio o 48%), a całkowity poziom grup karbonylowych w białkach zwiększa się (o ok. 20%). Habilitantka zidentyfikowała 11 białek o istotnie zmienionym poziomie oksydacji po rozmrożeniu nasienia, przy czym w przypadku 10 białek stwierdziła wzrost poziomu oksydacji. Należały do nich białka związane z organizacją cytoszkieletu i witki, utrzymaniem równowagi oksydacyjnej i procesami detoksykacji oraz metabolizmem energetycznym plemnika (między innymi ropporin-1, białko obwodowych włókien gęstych 2, białko pokrewne aktynie M1, białko pokrewne aktynie T2, S-transferaza glutationowa, izomeraza triozyfosforanowa, dehydrogenaza NADH oraz dehydrogenaza izocytrynianowa). Karbonylacja tych białek może być zatem zarówno bezpośrednim efektem stresu oksydacyjnego, jak i – ze względu na udział większości z nich w procesie kapacytacji plemników – przejawem przedwczesnej kapacytacji indukowanej kriokonserwacją (kriokapacytacji). Wskazanie przez Habilitantkę w badaniach konkretnych białek podatnych na utlenianie jest szczególnie wartościowe i umożliwia powiązanie zmian funkcjonalnych plemników, często obserwowanych po rozmrożeniu, z obniżeniem jakości nasienia. Uważam, że uzyskane wyniki mają duże znaczenie poznawcze, a w przyszłości mogą przyczynić się do poprawy efektywności rozrodu bydła.

Podsumowując, wszystkie publikacje wskazane przez Habilitantkę jako osiągnięcie naukowe tworzą spójny i dojrzały koncepcyjnie dorobek badawczy, w pełni wpisujący się w zakres reprezentowanej dyscypliny naukowej. Oba wyodrębnione cykle publikacji cechuje konsekwentne i pogłębione podejście do identyfikacji molekularnych podstaw procesów zachodzących w plemnikach buhaja, jak również czynników determinujących utrzymanie lub

utrata ich funkcjonalności podczas przetwarzania nasienia na potrzeby inseminacji. Prace przedstawione jako osiągnięcie naukowe mają charakter nowatorski, a wiele z nich dostarcza pierwszych danych w zakresie poruszanej tematyki badawczej, co jest efektem wnikliwego przemyślenia oraz kompleksowego doboru metodyki badań. Wykorzystanie nowoczesnych narzędzi proteomicznych oraz umiejętne powiązanie zmian molekularnych z ich efektem funkcjonalnym w plemnikach świadczą o wysokim poziomie naukowym przedstawionych prac, co znajduje potwierdzenie w ich publikacji w renomowanych zagranicznych czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania i punktacji zgodnej z wykazem MNiSW. Uzyskane rezultaty mają nie tylko istotne znaczenie poznawcze, lecz także wyraźny potencjał aplikacyjny, wyznaczając nowe perspektywiczne kierunki badań w zakresie doskonalenia technologii konserwacji nasienia buhajów. Za najważniejsze elementy osiągnięcia uznać można:

- wykazanie kluczowej roli stresu oksydacyjnego oraz karbonylacji białek w kształtowaniu jakości nasienia buhaja, w tym identyfikacja białek i struktur plemników szczególnie podatnych na uszkodzenia w procesach kriokonserwacji i seksowania,

- wykazanie nowych funkcji peroksyredoksyn w plemnikach buhaja oraz ustalenie znaczenia modyfikacji redoks i oksydacyjnej regulacji przekazywania sygnału w przebiegu procesów adaptacyjnych i kapacytacji plemników,

- wskazanie potencjalnych biomarkerów jakości nasienia buhaja oraz zastosowania nowoczesnych, kompleksowych metod ich identyfikacji, stanowiących podstawę doskonalenia technologii kriokonserwacji i selekcji materiału rozrodczego.

Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że całość osiągnięcia naukowego Habilitantki należy uznać za znaczący i wartościowy wkład w rozwój dyscypliny zootechniki i rybactwo, o istotnym znaczeniu poznawczym i potencjale aplikacyjnym.

Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych oraz aktywności naukowej

Dorobek naukowy Habilitantki po ostatnim awansie, poza opracowaniami wskazanymi jako główne osiągnięcie naukowe, charakteryzuje się spójnością tematyczną oraz wyraźnym ukierunkowaniem na zastosowanie metod proteomicznych w analizie procesów biologicznych, w szczególności związanych ze stresem oksydacyjnym i biologią rozrodu. Częścią tego dorobku jest praca przeglądowa poświęcona wykorzystaniu fluorescencyjnych metod proteomiki żelowej do badania sygnalizacji redoks. W publikacji zaprezentowano nowoczesne podejście do detekcji modyfikacji oksydacyjnych białek oraz omówiono różne metody proteomiki redoks, ze szczególnym uwzględnieniem detekcji S-nitrozytacji jako jednego

z bardziej precyzyjnych sposobów oceny zmian stanu redoks białek. Publikacja ta stanowi wartościowy wkład w rozwój metod badawczych i potwierdza wysokie kompetencje Habilitantki w zakresie zaawansowanych technik analitycznych.

Istotnym elementem dorobku są również dwie oryginalne prace poświęcone analizie proteomicznej procesów syntezy polihydroksyalcanianów (PHA) u bakterii *Pseudomonas putida* KT2440. W badaniach tych wykorzystano elektroforezę różnicową (2D-DIGE) w połączeniu ze spektrometrią mas (MALDI TOF/TOF) w celu określenia zmian w ekspresji białek w trakcie syntezy biopolimerów, zwłaszcza w warunkach niedoboru azotu. W badaniach wykazano między innymi istotne przeprogramowanie szlaków metabolicznych oraz adaptacyjne zmiany w ekspresji białek bakterii, co ma bezpośrednie znaczenie dla optymalizacji procesów biotechnologicznych podczas produkcji biodegradowalnych polimerów.

Bogaty pod względem ilościowym jest dorobek nawiązujący do wiodącej tematyki osiągnięcia naukowego, obejmujący pięć oryginalnych prac z zakresu biologii rozrodu różnych gatunków zwierząt. Jedną z publikacji dotyczy badań, których celem było określenie wpływu kriokonserwacji na plemniki karpia, zwłaszcza w kontekście stresu oksydacyjnego i karbonylacji białek. Wykazano, że kriokonserwacja plemników tego gatunku indukuje oksydacyjne uszkodzenia białek zaangażowanych w metabolizm energetyczny, wiązanie jonów wapnia, sygnalizację komórkową, fałdowanie białek, transport wewnątrzkomórkowy oraz mechanizmy związane z ruchliwością plemników. W konsekwencji modyfikacje oksydacyjne mogą prowadzić do obniżenia żywotności i ruchliwości plemników, niekorzystnych zmian ich parametrów kinematycznych oraz wzrostu odsetka plemników wykazujących podwyższony poziom RFT. Inne badania na rybach dotyczyły porównania jakości i możliwości kriokonserwacji nasienia odwróconych płciowo samic pstrąga tęczowego i pstrąga źródlanego. Wykazano gatunkowe zróżnicowanie skuteczności kriokonserwacji nasienia oraz określono optymalne warunki (koncentrację plemników, stężenie glukozy), przy których utrzymuje się wysoka ruchliwość plemników po rozmrożeniu. Wyniki mają znaczenie dla standaryzacji procedur kriokonserwacji i ich wdrażania w praktyce hodowlanej. Należy podkreślić, że badania te mają nie tylko wartość poznawczą, ale również istotne znaczenie dla praktyki hodowlanej, szczególnie w kontekście optymalizacji procedur stosowanych w biotechnologii rozrodu pstrągów.

Ważną częścią dorobku naukowego Habilitantki są badania dotyczące proteomu nasienia indyka oraz płynów układu rozrodczego buhaja. W publikacji dotyczącej białek osocza nasienia indyka przeprowadzono kompleksową identyfikację składników proteomicznych,

co stanowi ważny krok w kierunku lepszego zrozumienia molekularnych podstaw płodności u drobiu. Z kolei badania nad proteomem płynu pęcherzyków nasiennych oraz płynu ogonów najądrza u bydła (dwie publikacje) dostarczyły nowych informacji na temat środowiska, w którym dojrzewają plemniki, oraz mechanizmów chroniących je przed uszkodzeniami, w tym stresem oksydacyjnym.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że niemal wszystkie wymienione badania łączą zastosowanie zaawansowanych technik proteomicznych do rozwiązywania złożonych problemów biologicznych. Świadczy to nie tylko o dużej biegłości Habilitantki w stosowaniu nowoczesnych metod analitycznych, ale również o umiejętności ich adaptacji do różnych układów eksperymentalnych – od mikroorganizmów po organizmy wyższe. Wskazuje to także na znaczną dojrzałość naukową oraz zdolność do prowadzenia badań o charakterze interdyscyplinarnym.

Dorobek publikacyjny Habilitantki, stosownie do przedstawionej dokumentacji i po wykluczeniu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, obejmuje 15 prac, z których 8 opublikowano po uzyskaniu stopnia doktora oraz 7 przed doktoratem. Wśród tych publikacji 14 stanowią oryginalne prace naukowe, natomiast 1 to opracowania przeglądowe. W 3 artykułach Habilitantka jest pierwszym autorem, natomiast pozostałe prace publikowane były we współautorstwie, od 2 do 7 współautorów. Wszystkie prace opublikowano w czasopismach indeksowanych w bazie JCR, a po uzyskaniu stopnia doktora – w znacznej większości (6 prac, 75%) w uznanych czasopismach branżowych z najwyższego kwartyłu (Q1), między innymi w Journal of Dairy Science (dwie prace IF = 2,749; 200 pkt. MNiSW), Aquaculture (IF = 3,225; 140 pkt. MNiSW), Poultry Science (IF = 2,216; 140 pkt. MNiSW) czy Polymers (IF = 3,426; 100 pkt. MNiSW).

Sumaryczny Impact Factor całego dorobku naukowego Habilitantki według listy JCR, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 78,599 (przed uzyskaniem stopnia doktora 18,877), a wykluczając publikacje zaliczone do osiągnięcia naukowego 42,726. Łączna liczba punktów za publikacje według wykazu czasopism naukowych MNiSW (zgodnie z Komunikatem Ministra Nauki z dnia 05 stycznia 2024 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych) wynosi 2620 punktów, z czego 660 punktów przypada na dorobek przed ostatnim awansem, a 940 punktów na publikacje wskazane jako osiągnięcie naukowe. Prace z udziałem Kandydatki według bazy Web of Science Core Collection cytowano 487 razy, a indeks Hirscha wynosi 15.

W swojej aktywności konferencyjnej Habilitantka wskazuje 9 wystąpień, w tym 5 po uzyskaniu stopnia doktora. Na szczególne podkreślenie zasługuje, świadczące o uznaniu jej

kompetencji w środowisku naukowym, wygłoszenie wykładu otwierającego, na zaproszenie, podczas II posiedzenia plenarnego Komitetu Nauk Weterynaryjnych i Biologii Rozrodu PAN (2024 r.). Ponadto Habilitantka prezentowała wyniki badań na renomowanych konferencjach międzynarodowych (między innymi 10th Biennial Conference of the Association for Applied Animal Andrology, 12th Biennial Meeting of the Association for Applied Animal Andrology, International Conference on Biotechnology and Welfare in Animal Science with a session on “7th Poultry days”) głównie w obszarze proteomiki nasienia, stresu oksydacyjnego i kapacytacji plemników. Wcześniejsza aktywność konferencyjna, realizowana jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora, dotyczyła głównie badań proteomicznych roślin w ramach programów Europejskiego Programu Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych (COST).

Dr Agnieszka Mostek-Majewska w swoim dorobku ma również udział w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w ramach konkursów krajowych. Wymienić należy przede wszystkim dwa autorskie projekty, w których pełniła funkcję kierownika, projekt zatytułowany „Potencjalne zastosowanie peroksyredoksyn do poprawy jakości kriokonserwowanego nasienia buhaja” finansowany przez Narodowego Centrum Nauki (NCN) w ramach konkursu Sonata 17 (okres realizacji 2022–2025), oraz projekt Early Stage Researcher pod tytułem „Porównanie zdolności plemników do kapacytacji oraz poziomu oksydacji białek w nieseksowanym i seksowanym nasieniu buhaja” finansowany przez Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący (KNOW) w ramach Konsorcjum "Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność", MNiSW (okres realizacji 2017–2018).

Ponadto Habilitantka po ostatnim awansie uczestniczyła jako wykonawca w zrealizowanym projekcie wdrożeniowym finansowanym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju pt. „Innowacyjna wylęgarnia – wdrożenie kriokonserwacji nasienia do programów hodowli ryb łososiowatych”, oraz w 5 projektach krajowych finansowanych przez NCN (OPUS), realizowanych w latach 2014–2021, których tematyka jest spójna z problematyką przedstawioną w osiągnięciu naukowym i dorobku uzupełniającym.

Habilitantka wykazuje również aktywność naukową realizowaną we współpracy z zagranicznymi ośrodkami badawczymi, czego przykładem są dwa staże naukowe odbywane na Uniwersytecie Hamburgskim w ramach programów COST (2010–2011). W trakcie tych pobytów prowadziła zaawansowane badania proteomiczne dotyczące odpowiedzi roślin na stres solny oraz mechanizmów jego łagodzenia, rozwijając kompetencje w zakresie izolacji i analizy białek błonowych. Efektem współpracy były wskazane powyżej prezentacje wyników na międzynarodowych konferencjach oraz publikacja naukowa. Od 2024 r. dr Agnieszka

Mostek-Majewska podjęła współpracę z Estońskim Uniwersytetem Nauk Przyrodniczych w Tartu, która skoncentrowana jest na badaniach mikropęcherzyków zewnątrzkomórkowych przy użyciu cytometrii przepływowej z obrazowaniem. Habilitantka opracowała w tym zakresie procedurę analityczną rozróżniania mikropęcherzyków na podstawie rozmiaru, a wyniki badań stanowią podstawę przygotowywanych publikacji oraz zostały docenione zaproszeniem do prowadzenia wykładów i warsztatów (2025 r.).

Habilitantka rozwija także współpracę z ośrodkami krajowymi, w szczególności z Uniwersytetem Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie (2017 r.), której efektem są dwie publikacje dotyczące analizy proteomicznej bakterii *Pseudomonas putida* w kontekście syntezy biopolimerów, a także – jak wskazano w autoreferacie – poszerzenie jej kompetencji o zagadnienia biotechnologiczne i mikrobiologiczne.

Habilitantka odbyła łącznie sześć staży i kursów naukowych, w tym dwa dłuższe staże zagraniczne w Niemczech (Uniwersytet w Hamburgu, 2010 r. – 3 miesiące oraz 2011 r. – ok. 3 tygodnie) realizowane w ramach programów COST, a także cztery krótkoterminowe szkolenia specjalistyczne we Włoszech (2015 r.), Portugalii (2016 r.), Chorwacji (2017 r.) i Estonii (2024 r.), trwające od kilku dni do tygodnia.

Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka wykonywała recenzje w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, między innymi dla *Redox Biology*, *Reproductive Biology* i *Scientific Reports*.

Podkreślić należy, że dr Agnieszka Mostek-Majewska dwukrotnie została wyróżniona za wybitne osiągnięcia naukowe, w 2022 r. otrzymała Stypendium Ministra Nauki dla wybitnych młodych naukowców, natomiast w 2023 r. specjalną nagrodę Dyrektora Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie za publikację o wysokim wskaźniku IF (praca IB osiągnięcia naukowego).

Podsumowanie i wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę przedstawioną wyżej ocenę osiągnięcia naukowego oraz całokształtu dorobku i aktywności naukowej uważam, że dr Agnieszka Mostek-Majewska jest w pełni przygotowana do samodzielnej pracy naukowej. Wartościowy dorobek po otrzymaniu stopnia naukowego doktora, w tym dwa powiązane ze sobą tematycznie cykle publikacji wskazane jako osiągnięcie naukowe, dokumentuje kompetencje naukowe Kandydatki i stanowi znaczący wkład w rozwój reprezentowanej przez nią dyscypliny.

Stwierdzam, że dr Agnieszka Mostek-Majewska spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego zawarte w Ustawie z dnia

20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r. poz. 1571, art. 219 ust. 1 i 2).

W związku z powyższym popieram wniosek dr Agnieszki Mostek-Majewskiej o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo oraz wnoszę o podjęcie dalszych czynności w postępowaniu habilitacyjnym.

Agneszka Mostek-Majewska
18.03.2026