

Wizytówka naukowa kandydata na promotora

Dr hab. Piotr Bednarczyk, prof. SGGW	
Dyscyplina naukowa/dyscypliny naukowe	nauki biologiczne
Rozwój zawodowy (stopnie i tytuły naukowe) chronologicznie	2013 – habilitacja: Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, obszar nauk przyrodniczych, dziedzina nauk biologicznych, dyscyplina biofizyka 2004 – doktorat: Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, doktor nauk medycznych w zakresie biologii medycznej 1999 – magisterium: Wydział Matematyki i Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, magister fizyki w zakresie biofizyki
Najważniejsze publikacje/patenty/ z ostatnich 3 lat (maksymalnie 10)	Dabrowska A, Zajac M, Bednarczyk P* , Lukasiak A. Effect of quercetin on mitoBKCa channel and mitochondrial function in human bronchial epithelial cells exposed to particulate matter. (2022) Int J Mol Sci. 24:638. doi: 10.3390/ijms24010638. Kampa RP, Gliździńska A, Szewczyk A, Bednarczyk P* , Filipek S. Flavonoid quercetin abolish paxilline inhibition of the mitochondrial BKCa channel. (2022) Mitochondrion. 65:23-32. doi: 10.1016/j.mito.2022.04.005. Kampa RP, Sęk A, Szewczyk A, Bednarczyk P . Cytoprotective effects of the flavonoid quercetin by activating mitochondrial BKCa channels in endothelial cells. (2021) Biomed Pharmacother. 142: 112039. Bujak JK, Kosmala D, Majchrzak-Kuligowska K, Bednarczyk P . (2021) Functional Expression of TRPV1 Ion Channel in the Canine Peripheral Blood Mononuclear Cells. Int J Mol Sci. 22: 3177. Wawrzekiewicz-Jałowiecka A, Trybek P, Borys P, Dworakowska B, Machura Ł, Bednarczyk P . (2020) Differences in Gating Dynamics of BK Channels in Cellular and Mitochondrial Membranes from Human Glioblastoma Cells Unraveled by Short- and Long-Range Correlations Analysis. Cells. 9: 2305. Kicinska A, Kampa RP, Daniluk J, Sek A, Jarmuszkiewicz W, Szewczyk A, Bednarczyk P . (2020) Regulation of the Mitochondrial BKCa Channel by the Citrus Flavonoid Naringenin as a Potential Means of Preventing Cell Damage. Molecules. 25: 3010. Kampa RP, Kicinska A, Jarmuszkiewicz W, Pasikowska-Piwko M, Dolegowska B, Debowska R, Szewczyk A, Bednarczyk P . (2019) Naringenin as an opener of mitochondrial potassium channels in dermal fibroblasts. Exp Dermatol. 28: 543-550. Bujak JK, Kosmala D, Szopa IM, Majchrzak K, Bednarczyk P . (2019) Inflammation, Cancer and Immunity- Implication of TRPV1 Channel. Front Oncol. 9: 1087. Patent No. 416041
Doświadczenie w pracy z doktorantami (obronione doktoraty, otwarte przewody), chronologicznie	Doktoraty: 2020 – Dr Joanna Katarzyna Bujak – z wyróżnieniem 2021 – Dr Rafał Kampa Planowane doktoraty: 2020 – 2024 Mgr Adrianna Dąbrowska, 2021 – 2025 Mgr Jakub Hoser
Dorobek projektowy/grantowy (z ostatnich 10 lat)	Kierownik 2019/35/B/NZ1/02546 NCN – OPUS 18, 2016/21/B/NZ1/02769 NCN – OPUS 11 Wykonawca 2015/17/B/NZ1/02496 NCN – OPUS, MERIS PBS1/B8/1/2012 NCBiR, 2012/05/D/ST4/00320 NCN – SONATA, IP2012058072 MNiSW – Iuventus Plus i inne
Zakres tematyczny – problem badawczy – do rozwiązania którego poszukuje się doktoranta	1. Głównym celem projektu jest zbadanie roli kanałów jonowych potencjału przejściowego (TRP) ankiryiny 1 (TRPA1) oraz melastatyny 2 (TRPM2) w fizjologii limfocytów T w kontekście hipoksji oraz ich zaangażowania w potencjalną regulację odpowiedzi immunologicznej. Limfocyty T są komórkami układu odpornościowego, zaangażowanymi w reakcje obronne przeciwko patogenom, takim jak wirusy, ale także odgrywające kluczową rolę w przypadku nowotworów i chorób autoimmunologicznych. Biologia limfocytów T jest jednak złożona i wiele czynników reguluje ich prawidłowe funkcjonowanie. Obecnie powszechnie wiadomo, że na odpowiedź immunologiczną mogą wpływać takie czynniki jak temperatura, pH czy hipoksja. Hipoksja jest dobrze udokumentowana jako czynnik negatywnie wpływający na fizjologię limfocytów T, hamujący ich aktywację, cytotoksyczność czy metabolizm. Co ważne, obecne dane wskazują, że tzw. metaboliczne punkty kontrolne mają duże znaczenie w regulacji funkcji limfocytów T. Kanały jonowe TRP są rodziną receptorów, które reagują na różne bodźce ze środowiska zewnętrznego i przekazują informacje do wnętrza komórki za pomocą m.in. sygnalizacji wapniowej. Dwa białka z rodziny kanałów TRP, a mianowicie TRPA1 i TRPM2, mogą być aktywowane przez hipoksję i następujący po niej stres oksydacyjny. Z tego względu nasza hipoteza zakłada istnienie związku między hipoksją a TRPA1 i -M2, który potencjalnie może wpływać na fizjologię limfocytów T, na przykład w mikrośrodku nowotworowym. Metody: Nasz model badawczy opiera się na pierwotnych ludzkich limfocytach T, izolowanych z krwi zdrowych dawców. Projekt będzie skupiał się na hipoksji oraz kanałach jonowych TRPA1 i TRPM2. W pierwszym kroku ustalimy ekspresję TRPA1 i TRPM2 w odpowiedzi na hipoksję, korzystając z technik <i>real time</i> PCR, Western Blot, i skorelujemy to z procesem aktywacji limfocytów T. Aby potwierdzić aktywację i właściwą odpowiedź na

	<p>hipoksję, sprawdzimy również poziomy ekspresji markerów aktywacji (np. CD69, CD25) oraz markerów hipoksji (np. HIF1-α). Ponadto, zbadamy rolę TRPA1 i TRPM2 w „wyczuwaniu” hipoksji, stosując inhibitory TRPA1 i TRPM2. Inhibitory TRPA1 i TRPM2 zostaną zweryfikowane przy użyciu testu Fura-2 pozwalającego na pomiar stężenia jonów wapnia. Oceniać będziemy, czy hamowanie TRPA1 i TRPM2 wpływa na fizjologię limfocytów T pod względem aktywacji, proliferacji, apoptozy, cytotoxyczności (produkcji granzymu B i perforyny przez komórki CD8+), produkcji wybranych cytokin oraz ekspresji cząsteczek kontrolujących odpowiedź immunologiczną, np. PD-1. Do analizy wykorzystamy cytometrię przepływową, ELISA, <i>real time</i> PCR oraz Western Blot. Dodatkowo, ocenimy wpływ hamowania TRPA1 i TRPM2 na metabolizm limfocytów T, analizując ich oddychanie przy użyciu Oxygraph, produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), poziomy mleczanu i ATP wewnątrzkomórkowego.</p> <p>Wpływ wyników: Wyniki projektu mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia biologii limfocytów T i odpowiedzi immunologicznej, szczególnie w kontekście hipoksji w mikrośrodowisku nowotworowym (TME). Co najważniejsze, wyniki projektu mogą również umożliwić opracowanie nowatorskich strategii leczenia chorób autoimmunologicznych i nowotworowych oraz poprawę immunoterapii opartej na limfocytach T. Doktorat będzie realizowany w ramach projektu NCN. Promotor pomocniczy: dr Joanna Katarzyna Bujak (Instytut Biologii, SGGW)</p> <p>2. Głównym celem projektu jest zbadanie mechanizmu uszkodzeń i naprawy DNA po ekspozycji na czynnik genotoksyczny, substancję rakotwórczą - pył miejski (PM, ang. particulate matter), ze szczególnym uwzględnieniem roli kanałów jonowych w odpowiedzi na uszkodzenia DNA (DDR, ang. DNA damage response). Chociaż mechanizmy DDR zostały szeroko zbadane, większość prac koncentruje się na sygnalizacji, w której pośredniczą białka cytozolowe lub jądrowe, a nie białka związane z błoną – kanały jonowe. Do naszych badań wybraliśmy białko, które jest kluczowym regulatorem fizjologii komórki – kanał potasowy o dużej przewodności aktywowany wapniem (BKCa, KCa1.1, KCNMA1). Białko to jest obecne w wielu różnych typach komórek. Wykazano jego obecność również w ludzkich komórkach nabłonkowych oskrzeli (HBE, ang. human bronchial epithelial cells) naszego układu oddechowego – pierwszej bariery kontaktowej wdychanych cząstek, w tym PM.</p> <p>Według ostatnich badań wdychanie cząstek stałych prowadzi do uszkodzenia DNA. Jednak aktualna wiedza na temat udziału kanału BKCa w odpowiedzi na uszkodzenia DNA i naprawy po ekspozycji na PM jest ograniczona. W związku z tym, w oparciu o badania wstępne postawiliśmy hipotezę, że kanał potasowy BKCa może być kluczowym elementem odpowiedzi na uszkodzenie DNA komórki, aktywowanym przez PM. Po pierwsze, aby przetestować naszą hipotezę, wygenerowaliśmy linię komórkową HBE z delecją podjednostki α kanału BKCa (HBE $\Delta\alpha$BKCa) przy użyciu technologii CRISPR/Cas9. Ponadto ekspozycja na PM spowodowała wzrost dwuniciowych pęknięć DNA w komórkach HBE $\Delta\alpha$BKCa w porównaniu z grupami kontrolnymi, co po raz pierwszy sugeruje rolę BKCa w odpowiedzi na uszkodzenie DNA. Aby przetestować naszą hipotezę, popartą wstępnymi wynikami, realizacja projektu obejmie następujące zadania badawcze:</p> <ol style="list-style-type: none"> Ocena skutków biologicznych indukowanych przez PM na poziomie komórkowym, w tym przeżywalności komórek, proliferacji, apoptozy, cyklu komórkowego, detekcja oraz analiza różnych typów uszkodzeń DNA przy użyciu mikroskopii konfokalnej, cytometrii przepływowej i nowatorskich platform o wysokiej przepustowości. Analiza ekspresji genów związanych ze szlakiem sygnalizacji cyklu komórkowego, uszkodzeń i naprawy DNA po ekspozycji na PM z wykorzystaniem linii komórkowej HBE wt oraz HBE $\Delta\alpha$BKCa dwiema metodami: <i>real-time</i> PCR oraz techniką sekwencjonowania wysokoprzepustowego oraz walidacja wybranych szlaków DDR na poziomie białek z wykorzystaniem techniki western blot. Farmakologiczna modulacja kanałów BKCa: z wykorzystaniem specyficznych aktywatorów i inhibitorów kanałów BKCa w celu modulacji aktywności kanałów w komórkach HBE typu dzikiego i zbadania wpływu na markery DDR, wydajność naprawy DNA, przeżywalność komórek i apoptozę. <p>Uzyskane wyniki w niniejszym projekcie przyczynią się do poszerzenia wiedzy z zakresu kanałów jonowych, a tym samym do lepszego zrozumienia mechanizmów odpowiedzi komórkowej na uszkodzenia DNA. Ponadto uzyskane w projekcie analizy transkryptomyczne szlaków DDR mogą również wskazać na kanał BKCa jako nowy czynnik modulujący wrażliwość komórek nie tylko na PM jako czynnik uszkadzający DNA, ale także na inne czynniki genotoksyczne, takie jak promieniowanie, szeroko stosowane w wielu terapiach przeciwnowotworowych. Zrozumienie molekularnych mechanizmów odpowiedzi na uszkodzenia DNA na genotoksyczne czynniki środowiskowe, w tym PM, może również dostarczyć informacji na temat opracowania nowych strategii leczenia chorób neurodegeneracyjnych i raka płuc. Promotor pomocniczy: dr Kamila Maliszewska-Olejniczak (Instytut Biologii, SGGW)</p>
Dane kontaktowe: Wydział/Instytut Adres e-mail Telefon	Dr hab. Piotr Bednarczyk, prof. SGGW KFB, Instytut Biologii, SGGW piotr_bednarczyk@sggw.edu.pl, (22) 5938620