



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Ocena rozprawy doktorskiej
Pani mgr Agaty Borkowskiej zatytułowanej
„Rola autofagii i starzenia w chemooporności raka nerki:
analiza *in vitro* i *in vivo*”

Mimo dużego postępu w badaniach nad nowotworami, wciąż pozostają one jedną z głównych przyczyn śmiertelności u ludzi w krajach rozwiniętych. Wyniki ostatnich badań wskazują, że w odpowiedzi na chemioterapeutyki, komórki nowotworowe ulegają starzeniu a ich obecność może przyczyniać się do rozwijania chemooporności. Zrozumienie powyższych mechanizmów może w przyszłości zwiększyć powodzenie i skuteczność terapii antynowotworowych.

Temat ten zainteresował Panią mgr Agatę Borkowską, która wspólnie z prof. Claudine Kieda (promotor) i dr Haliną Waś (promotor pomocniczy) postawiła hipotezę, że skutecznym rozwiązaniem problemów chemooporności może być hamowanie autofagii komórek nowotworowych. Badania w ramach tego tematu Doktorantka zrealizowała w Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych Wojskowego Instytutu Medycznego dzięki finansowaniu m.in., z projektu SONATA-BIS „Rola autofagii i starzenia w chemooporności komórek nowotworowych: badania *in vitro*, *in vivo* i analiza materiału klinicznego”, którego kierownikiem jest dr Halina Waś.

Formalny opis rozprawy

Praca doktorska, napisana w języku polskim, ma klasyczny układ i spełnia wszystkie wymagania tego typu rozpraw. Pracę otwiera Spis rycin podzielony na Spis figur i Spis tabel, jednak w mojej ocenie te rozdziały powinny funkcjonować oddzielnie jako Spis tabel (bo tabele nie są rycinami) oraz Spis rycin (zamiast Spis figur).

Kolejne rozdziały to Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wstęp, Założenia i Cel pracy, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusja i Wnioski. Pracę zamyka bogate Piśmiennictwo (liczące aż 335 pozycji), prawidłowo sformatowane, zawierające w dużej mierze najnowsze prace dotyczące badanej tematyki. Ostatnią częścią jest dołączona kopia zgody komisji etycznej na wykonane w ramach doktoratu analizy *in vivo*.

Praca jest obszerna (liczy 226 stron) i być może to wpłynęło na fakt, że niestety, liczne są błędy interpunkcyjne, gramatyczne i składniowe. Zdaję sobie sprawę z tego, że przy tak dużej objętościowo pracy nie do uniknięcia są drobne pomyłki literowe; szkoda, jednak że Doktorantka nie wykonała dogłębnej korekty w celu zredukowania błędów językowych.

Z obowiązku Recenzenta zwrócę uwagę na kilka potknięć językowych:

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

Prof. dr hab. Agnieszka Łoboda

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 8412

fax. +48 12 664 8918

agnieszka.loboda@uj.edu.pl

<http://bioteka.moi.uj.edu.pl/zbm>



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

- Doktorantka zamiennie używa słów – chemooporność i chemiooporność a nawet chemoodporność, podobnie chemoterapeutyki/chemioterapeutyki – warto stosować jeden zapis w całej rozprawie;

- czy nie lepszym słowem zamiast „tranzycja” jest „przejście” epitelialno-mezenchymalne?

- niezbyt fortunate jest sformułowanie – „komórki mogą uciekać od starzenia”

- w języku polskim mówimy o starterach a nie primerach do reakcji PCR;

- w Wykazie skrótów pojawiają się czasem dosłowne tłumaczenia z języka angielskiego, np. skrót BCL-2, z ang. *B-Cell Lymphoma 2* został przetłumaczony jako chłoniak z komórek B2, ale może lepiej napisać, że są to białka regulujące proces apoptozy;

- nomenklatura – nazwy ludzkich genów pisze się kursywą (Doktorantka nie zawsze stosuje prawidłowy zapis);

Ocena merytoryczna

Pracę otwiera **Wstęp**, zawarty na 23 stronach, podzielony na siedem podrozdziałów i zobrazowany pięcioma rycinami. W tej części przedstawiono najważniejsze informacje dotyczące raka nerki i sposobów jego leczenia, wpływu niedotlenienia na nowotworzenie, opisane są również mechanizmy chemooporności. Dużą uwagę poświęcono przedstawieniu procesu starzenia komórkowego a na koniec scharakteryzowano proces autofagii.

Wstęp czyta się bardzo dobrze, stanowi on właściwe wprowadzenie do lektury dalszych części rozprawy. Doktorantka dokonała wyboru najważniejszych informacji, przedstawiając kluczowe aspekty związane z realizowanym projektem. Jeśli miałabym coś zasugerować, to proponowałabym rozszerzyć rozdział dotyczący leczenia raka nerki o opisanie terapii anty-angiogennych, stosowanych z chemioterapią. W przypadku licznych nowotworów, w tym nerki, uzasadnione jest stosowanie leków normalizujących chaotyczną strukturę naczyń krwionośnych, ułatwiających penetrację i działanie chemioterapeutyków. Takim lekiem jest np. Avastin (Bevacizumab), stosowany w skojarzeniu z interferonem alfa-2a u dorosłych pacjentów z zaawansowanym i (lub) rozsiałym rakiem nerki. Doktorantka zdaje sobie sprawę z ograniczeń chemioterapii pisząc na str. 19 „*Badania kliniczne wykazały, że żaden lek cytotoksyczny stosowany w monoterapii nie charakteryzuje się zadowalającą skutecznością w leczeniu zaawansowanego raka nerki*” oraz ma świadomość problemów z unaczynieniem w guzie nowotworowym, o czym świadczy, m.in. zdanie (str. 23): „*Nieprawidłowości w unaczynieniu przyczyniają się do szybszego wzrostu guza oraz ograniczają przenikalność leków do zmienionej chorobowo tkanki. Niedotlenienie może też wpływać negatywnie na skuteczność działania leków cytotoksycznych oraz radioterapii wymagających obecności O₂*”. W mojej opinii, warto byłoby rozszerzyć wspomniany wątek w dysertacji.

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

Prof. dr hab. Agnieszka Łoboda

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6412

fax. +48 12 664 6918

agnieszka.loboda@uj.edu.pl

<http://bioteka.moi.uj.edu.pl/zbm>

Po lekturze tej części pracy nasunęły mi się następujące pytania/uwagi:

str. 21 – Autorka pisze „Obecnie rekomendowane jest leczenie z wykorzystaniem inhibitorów kinazy tyrozynowej VEGF (ang. VEGF Receptor Tyrosine Kinase inhibitors, VEG-TKI) takich jak Pazopanib, Sunitinib oraz Axitinib” – czy wszystkie wymienione tu równorzędnie leki działają tylko na kinazy tyrozynowe w VEGF-R?

Str. 21 - mgr Borkowska opisuje stan niedotlenienia, jako „patologiczny fenomen polegający na nie-fizjologicznym obniżeniu poziomu tlenu (O_2) w tkance do ok. 1%.” Pragnę zwrócić uwagę, że niedotlenienie dla danego organu będzie czymś innym i niekoniecznie musi wynosić 1% O_2 , hipoksja to obniżenie poziomu tlenu poniżej optymalnego (różnego dla danej tkanki) poziomu.

W kolejnym rozdziale mgr Borkowska definiuje **Założenia i cele** pracy. Należy podkreślić, że zostały one jasno sprecyzowane - wyszczególniono siedem szczegółowych zadań badawczych mających umożliwić odpowiedź na pytanie czy modulacja autofagii poprzez jej inhibicję uwrażliwi stare komórki raka nerki na indukcję śmierci komórkowej i/lub wpłynie na wznowienie ich potencjału proliferacyjnego i generację komórek potomnych w normoksji i w hipoksji.

Rozdział **Materiały i Metody** zawiera szczegółowe opisy przeprowadzonych eksperymentów, w tym schematy poszczególnych doświadczeń oraz opisy wykorzystanych technik badawczych. Doktorantka przedstawiła bogaty wachlarz zastosowanych procedur, opisując między innymi prowadzenie hodowli komórkowych, testy biochemiczne, jak analiza aktywności metabolicznej, oznaczenie aktywności β -galaktozydazy, badanie proliferacji, testy ELISA. Mgr Borkowska wykorzystywała cytometrię przepływową, wykonywała barwienia immunofluorescencyjne, badała ekspresję genów i białek z użyciem (odpowiednio) metody PCR w czasie rzeczywistym i ELISA oraz Western blot. W swoich badaniach Doktorantka wykorzystywała również zaawansowane, najnowsze osiągnięcia biologii molekularnej i we współpracy z firmą zewnętrzną wykonała analizę transkryptomyczną z wykorzystaniem metody NGS. Oprócz eksperymentów *in vitro*, przeprowadzonych na dwóch liniach raka nerki, wykonała też badania *in vivo* wykorzystując myszy syngeniczny model raka nerki.

Zakres metod opanowanych przez Doktorantkę wskazuje na duże zaangażowanie w pracę laboratoryjną. Należy podkreślić, że doświadczenia *in vitro*, w zależności od eksperymentu, charakteryzowały się nieco innymi schematami, ale wszystkie trwały kilka- a nawet kilkanaście dni i wymagały ciągłej aktywności laboratoryjnej eksperymentatora.

Opisy procedur są wyczerpujące i wystarczające do odtworzenia przebiegu eksperymentów. Szkoda, że nie podano numerów katalogowych przeciwciał, wykorzystywanych w analizach Western blot i barwieniach - te informacje mogą być przydatne przy próbie przeprowadzenia podobnych doświadczeń. Z drugiej strony, zbyteczne w mojej opinii, jest wielokrotne powtarzanie danych dotyczących producenta danego odczynnika - wystarczy podać je raz.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

Prof. dr hab. Agnieszka Łoboda

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 8412

fax. +48 12 664 8918

agnieszka.loboda@uj.edu.pl

<http://bioteka.moi.uj.edu.pl/zdm>

Do tej części mam następujące pytania/uwagi:

Str. 42 – Tabela 1 przedstawia stężenia użytych chemioterapeutyków, nie wiadomo jednak na jakiej podstawie zostały one wybrane. Te informacje znajdują się dopiero dużo później, w opisie wyników (Tabela 14). Podobna sytuacja dotyczy Tabeli 2 (str. 45), gdzie zabrakło informacji na jakiej podstawie dokonano wyboru dawek do badań *in vivo*.

W kilku miejscach, np. str. 42, 43, 64 podano błędne odwołania do rozdziałów opisujących schemat przeprowadzenia doświadczeń (np. Rozdział 4.1. zamiast 7.1)

Na str. 46 podobna nieścisłość dotyczy cytowania tabeli (Szczegółowy opis znieczulenia został przedstawiony w Tabeli 3 a nie jak napisano w Tabeli 7).

W tabeli 5 (str. 50) i tabeli 7 (str. 56) podsumowujących użyte przeciwciała do barwień immunofluorescencyjnych i analizy Western blot, pojawia się termin „klonalność”. Termin ten oznacza raczej zdolność pojedynczej komórki do proliferacji i tworzenia kolonii a nie jak rozumiem różnice dotyczące rozpoznawania jednego albo wielu epitopów danego antygenu.

W tabeli 7 (str. 56) przedstawiono dane na temat wykorzystania różnych przeciwciał (z różnych firm) np. dla białka p21 czy p62, jednak nie podano z czego wynika konieczność zastosowania odmiennych przeciwciał.

W opisie testu ELISA na str. 59 pojawia się sformułowanie „przeciwciała przechwytyjące”. Nie spotkałam się z takim określeniem tzw. *capture antibody*, zazwyczaj mówi się o przeciwciałach opłaszczających (przeciwciała opłaszczają/pokrywają studzienki płytki).

W opisie rozdziału 7.2.12.1. *Analiza morfologii jąder komórkowych* zastanawia mnie jak definiowano i analizowano komórki z jądrami o normalnej wielkości, co to znaczy normalna wielkość? Przykładowe zdjęcia obrazujące zidentyfikowane cztery rodzaje komórek zaprezentowane na Ryc. 9 są bardzo przekonujące, jednak na pewno zdarzały się też obrazy, których analiza nie była tak oczywista. Jakie przyjęto kryterium klasyfikacji do poszczególnej grupy?

Mam nadzieję, że powyższe uwagi, w większości edytorskie, będą pomocne, np. przy redagowaniu manuskryptów, opisujących ciekawe wyniki uzyskane w tej dysertacji.

Rozdział **Wyniki** został przedstawiony na ponad 40 stronach, zawiera aż 61 rycin i sześć tabel. Doktorantka przeprowadziła szereg doświadczeń *in vitro*, na liniach raka nerki (głównie na ludzkiej linii RCC4), analizując wpływ trzech leków cytotoksycznych: winblastyny (VIN), 5-Fluorouracylu (5-FU) i gemcytabiny (GEM) stosowanych jako induktorów starzenia komórkowego. W dalszych analizach, mgr Borkowska skupiła się na określeniu roli autofagii w starzeniu komórkowym. W ramach tego zadania postawiła dwa główne pytania: 1) czy inhibicja autofagii na wczesnym etapie, może wpłynąć na indukcję starzenia oraz 2) czy zahamowanie autofagii na późnym etapie, w starych komórkach, wpłynie na ich przeżycie lub zdolność do reaktywacji proliferacji. W ramach tych badań, Doktorantka zastosowała zarówno



Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii
Zakład Biotechnologii
Medycznej

Prof. dr hab. Agnieszka Łoboda

ul. Gronostajowa 7
PL 30-387 Kraków
tel. +48 12 664 6412
fax. +48 12 664 6918
agnieszka.loboda@uj.edu.pl
<http://bioteka.mol.uj.edu.pl/zbm>

genetyczne wyciszenie ekspresji genów zaangażowanych w regulację autofagii (specyficzne siRNA targetujące *ATG5*, *ATG7*, *BECN1* oraz *ULK1*) a także farmakologiczne inhibitory autofagii, takie jak hydroksychlorochina (HCQ) i bafilomycyna A1 (BafA1).

Pragnę podkreślić, że ta część jest bardzo starannie przygotowana, wyniki zostały prawidłowo opisane, Doktorantka klarownie tłumaczy konieczność przeprowadzenia kolejnych eksperymentów. Na pochwałę zasługują przejrzyste ryciny z wyczerpującą legendą. Załączone zdjęcia komórek czy wyników barwienia i analiz Western blot są bardzo dobrej jakości. Do najważniejszych wyników analiz *in vitro* należy wykazanie, że chemioterapeutyki (głównie winblastyna) wywołują starzenie komórek raka nerki a efekt ten nie jest zależny od poziomu tlenu. Co istotne, obserwowano zróżnicowany efekt hamowania autofagii na indukcję starzenia – inhibicja wczesnych etapów tego procesu nie wpływała m.in. na proliferację komórek, ale farmakologiczne zahamowanie późnej autofagii prowadziło do indukcji śmierci komórkowej oraz blokady cyklu komórkowego. Dogłębne analizy transkryptomyczne pozwoliły na wskazanie puli genów, które mogą mieć znaczenie dla generacji komórek potomnych w niedotlenieniu. Dzięki analizie NGS wytypowano grupę genów, których ekspresję postanowiono potwierdzić metodą PCR w czasie rzeczywisty. Takie działanie jest w pełni uzasadnione i powszechnie praktykowane. Doktorantka przeanalizowała ekspresję genów kodujących HO-1, PLK-1, VEGFC, CDC20, BMP2, NEK2, IGFBP-3, GTSE1, C3 i ROBO1. Dla większości z nich potwierdzono podobny wzór ekspresji jak w analizie NGS. Szkoda, że w przypadku niektórych genów nie podano nawet ich nazw ani żadnych informacji na temat ich funkcji/roli w nowotworzeniu (np. CDC20, NEK20).

Doktorantka poddała uzyskane wyniki analizie statystycznej, na wykresach w bardzo przejrzysty sposób zaznaczono porównanie np. wpływu badanych chemioterapeutyków względem kontroli. Zastanawia mnie jednak, czy przeprowadzano porównanie np. wpływu danego związku w normoksji i hipoksji. Czy te efekty nie były istotne statystycznie czy taką analizę wykonywano tylko w nielicznych sytuacjach? Np. na Ryc. 12E, efekt 10 μ M lub 100 μ M 5-FU jest widoczny w normoksji, ale nie w hipoksji, ale nie zaznaczano istotności statystycznej. Podobnie w przypadku Ryc. 17, nie ma zaznaczonej statystyki pomiędzy normoksją i hipoksją a tytuł ryciny brzmi „VIN i GEM w niższym stopniu promują rozwój fenotypu starzeniowego komórek mysich w hipoksji niż w normoksji”. Na jakiej podstawie wysunięto taki wniosek? Również w przypadku Ryc. 18, zatytułowanej „Niedotlenienie nie wpływa na indukcję starzenia pod wpływem 5-FU w komórkach mysich”, wydaje się, że nie analizowano różnic pomiędzy normoksją i hipoksją a nadrzędnym celem tych analiz było określenie wpływu 5-FU na komórki RenCa. W związku z tym, zastanawiam się, czy bardziej odpowiednim nie byłby tytuł „5-FU indukuje starzenie w komórkach mysich”.

Analizując tę część rozprawy nasunęły mi się jeszcze następujące pytania:

- Czy w badanym układzie eksperymentalnym w warunkach niedotlenienia potwierdzono aktywację czynnika HIF-1 α ?



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

Prof. dr hab. Agnieszka Łoboda

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 684 8412

fax. +48 12 684 8918

agnieszka.loboda@uj.edu.pl

<http://bioteka.moi.uj.edu.pl/zbm>



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

- Ciekawe jest to, że w niedotlenieniu nie zmienia się poziom zależnego od HIF-1 czynnika GAPDH (wyniki analiz Western blot np. Ryc. 21A, 22 A, 24A, 42A) ani białek angiogennych regulowanych przez niedotlenienie – np. IL-8, VEGF (Ryc. 23 A, B). Czy Doktorantka spodziewała się takiego wyniku?

- Proszę o wyjaśnienie co oznacza legenda „1+5” albo „1+7” na Ryc. 43

- Czy porównanie grup „5-FU” i „5-FU + HCQ” na Ryc. 48D nie jest istotne statystycznie?

W drugiej części analiz, przeprowadzono badania *in vivo*, które miały na celu sprawdzenie, czy zahamowanie autofagii może wpływać m.in. na tempo wzrostu guza. W badaniach wyodrębniono myszy otrzymujące winblastynę oraz takie, którym dodatkowo podawano inhibitor autofagii, HCQ, w dawce 30 mg/kg. W trakcie doświadczenia zaobserwowano bardzo dużą śmiertelność zwierząt oraz liczne zmiany i nieprawidłowości w anatomii wielu organów, głównie układu pokarmowego. Pomimo braku różnic w wielkości guzów pomiędzy analizowanymi grupami myszy, Doktorantka przeprowadziła dalsze badania, np. ekspresji czynników regulujących proces EMT, markerów macierzystości, czynników zapalnych czy regulatorów limfangiogenezy. Mgr Borkowska nie obserwowała różnic w poziomie badanych czynników. Zastanawia mnie stwierdzenie (str. 143): „Nie zaobserwowano zmian w ekspresji białek HIF-1 α i HIF-2 α co wskazuje na brak wpływu HCQ na hipoksję”. Proszę Doktorantkę o wyjaśnienie jak HCQ mógłby wpływać na hipoksję. Niektóre wnioski wydają mi się nieco zbyt mocne, np. na str. 143 mgr Borkowska pisze, że „Odnotowano jedynie wyższą ekspresję białka Gpx1, co wskazuje na aktywację odpowiedzi antyoksydacyjnej”. Wydaje mi się, że zmiana poziomu jednego białka, przy równoczesnym braku np. w poziomie HO-1, nie jest wystarczająca do stwierdzenia indukcji odpowiedzi antyoksydacyjnej. Podobnie, analiza ekspresji czynników zapalnych czy regulatorów limfangiogenezy dotyczyły tylko wybranych czynników, tj. CD45 oraz LYVE-1, gdzie nie zaobserwowano wpływu HCQ, jednak do wyciągnięcia wniosku, że np. zahamowanie autofagii nie wpłynęło na odpowiedź immunologiczną i limfangiogenezę (str. 143), wskazane byłyby dalsze analizy.

Na koniec oceny tej część dysertacji zwrócę jeszcze uwagę na drobne nieścisłości dotyczące sposobu prezentacji niektórych wyników – np. na Ryc. 59 H-K, 60 B-E oś Y nie zaczyna się w pkt 0, co może być mylące. Ponadto, w przypadku legendy niektórych rycin, np. Ryc. 62, Ryc. 64 – Ryc. 71, zbędne są dane dotyczące analizy statystycznej, bo nie obserwowano tam opisanych istotności statystycznych.

Bardzo ciekawym rozdziałem rozprawy jest dość rozbudowana **Dyskusja**. Doktorantka ze swobodą interpretuje swoje wyniki i w przemyślany sposób analizuje je na tle danych literaturowych. Mgr Borkowska cytuje wiele nowych i najnowszych publikacji wskazując zarówno na podobieństwa jak i różnice w wynikach uzyskanych przez inne grupy badawcze. Tę część czyta się bardzo dobrze, choć mogłaby być ona podzielona na podrozdziały i/lub zobrazowana graficznym podsumowaniem.

W dyskusji, na str. 161, Doktorantka pisze „Wśród nich odnotowano tylko cztery geny kodujące białka, których ekspresja była niższa w hipoksji: HMOX1,

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

Prof. dr hab. Agnieszka Łoboda

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 8412

fax. +48 12 664 8918

agnieszka.loboda@uj.edu.pl

<http://biocika.moi.uj.edu.pl/zbm>

KLRG1, H3C10 oraz PSAT1. Nie są to białka powszechnie wiązane z funkcjonowaniem komórek nowotworowych czy depoliploidyzacją. Nie jestem przekonana, że zaklasyfikowany tu gen HMOX1, który koduje oksygenazę hemową-1, powinien być na tej liście. Zarówno własne doświadczenie a przede wszystkim dane z bazy PubMed (wyszukiwanie słów HO-1 cancer ujawnia ponad 1490 publikacji) wskazują, że HO-1 jest ściśle związany z biologią komórek nowotworowych.

Podsumowanie

Stwierdzam, iż mgr Agata Borkowska przeprowadziła dobrze zaplanowane doświadczenia, odpowiednio je zinterpretowała i opisała w pracy doktorskiej. Uzyskane wyniki poszerzają wiedzę na temat chemooporności komórek nowotworowych i stanowią ważny głos w opracowaniu terapii nowotworów, szczególnie raka nerki.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668) i stanowi dowód na posiadaną przez Doktorantkę wiedzę teoretyczną i praktyczną znajomość technik metod biologii molekularnej niezbędnych do prowadzenia pracy badawczej.

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pani mgr Agaty Borkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku,

Agnieszka Łoboda



**UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE**

**Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii**

**Zakład Biotechnologii
Medycznej**

Prof. dr hab. Agnieszka Łoboda

ul. Gronostajowa 7
PL 30-387 Kraków
tel. +48 12 664 8412
fax. +48 12 664 8918
agnieszka.loboda@uj.edu.pl
<http://bioteka.mol.uj.edu.pl/zbm>