

**OCENA ŚRÓDOKRESOWA
–ZA OKRES OD 01.10.2022 DO 30.09.2024
MID-TERM ASSESSMENT FOR PERIOD 01.10.2022 – 30.09.2024**

DAMIAN CIUNOWICZ

.....
(imię / imiona i nazwisko doktoranta / name/s and surname of PhD student)

1. Tytuł rozprawy doktorskiej (w języku dysertacji) / Original title of doctoral dissertation

Otrzymywanie uniwersalnych neuronów i kardiomiocytów.
Obtaining universal neurons and cardiomyocytes.

2. Komisja Ewaluacyjna ds. Oceny Śródkresowej Doktoranta Międzynarodowej Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (UM) w dyscyplinie: nauki medyczne w składzie: / Evaluation Commission for Mid-term Assessment the PhD student at UM International Doctoral School in the discipline: medical sciences consists of:

No.	Tytuł / stopień naukowy, imię, nazwisko / Scientific title / degree, name, surname	Rola / Role
1.	dr hab. n. med. Tomasz Boczek Uniwersytet, wydział, instytut / University, faculty, institute: Uniwersytet Medyczny w Łodzi	Przewodniczący Komisji / Head of the Committee
2.	dr hab. n. med. Mariusz Hartman Uniwersytet, wydział, instytut / University, faculty, institute: Uniwersytet Medyczny w Łodzi	Członek Komisji z UM / Member from the MUL
3.	Prof. dr hab. n. med. Magdalena Zielińska Uniwersytet, wydział, instytut / University, faculty, institute: PAN w Warszawie	Członek Komisji spoza UM / Member from outside the MUL
4.	lek. wet. Piotr Kamola Uniwersytet Medyczny w Łodzi/ Medical University of Lodz:	Obserwator – doktorant / Observer – Doctoral student

Ocena końcowa doktoranta DAMIANA CIUNOWICZA
/ Final assessment of PhD student

POZYTYWNA / POSITIVE*

Uzasadnienie końcowej oceny Komisji
/ Justification of Commission's final assessment result

Na podstawie przedłożonej do oceny dokumentacji dotyczącej działalności kształcenia w Międzynarodowej Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi komisja pozytywnie ocenia doktoranta. Celem pracy doktorskiej jest otrzymanie neuronów oraz kardiomiocytów, które poprzez usunięcie genu kodującego β -2 mikroglobulinę (B2M) zyskują cechę uniwersalności pod względem immunologicznym.

Zgodnie z harmonogramem, w czasie pierwszych dwóch lat kształcenia w Międzynarodowej Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (rok akademiki 2022/2023 i 2023/2024), p. mgr. Ciunowicz zaplanował realizację 10 etapów badań obejmujących m.in. zaprojektowanie sekwencji gRNA do metody CRISPR opartej na lentivirusowym systemie ekspresyjnym oraz ich uzyskanie; różnicowanie indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC) do neuralnych komórek macierzystych (NSC); wykonanie usunięcia genu kodującego B2M w NSC oraz zweryfikowanie edycji genomu; przeprowadzenie różnicowania uniwersalnych NSC do uniwersalnych neuronów wraz z analizą funkcjonalną i obrazowaniem; reprogramowanie uniwersalnych NSC do uniwersalnych iPSC wraz z ich analizą funkcjonalną i obrazową; publikację artykułu przeglądowego oraz uczestnictwo w konferencji, poza udziałem w pracach badawczych jednostki; pozostał do realizacji udział w konferencji.

Na podstawie materiałów stwierdza się, że potwierdzono:

1. uzyskanie komórek NSC w wyniku różnicowania komórek iPSC (dokumentacja pośrednia);
2. uzyskanie komórek NSC z usuniętym genem kodującym immunoglobulinę β 2, stosując metodę CRISPR opartą na lentivirusowym systemie ekspresyjnym, do zastosowania której zaprojektowano odpowiednie sekwencje gRNA i otrzymano lentivirusowe wektory z usuniętym genem kodującym B2M; wyniki potwierdzono eksperymentalnie na poziomie mRNA i białka (Ryc. 1, Ryc. 2);
3. uzyskanie uniwersalnych neuronów z komórek NSCkoB2M (barwienie immunocytochemiczne MAP-2, TH, Ryc. 4);
4. rozpoczęcie doświadczeń reprogramowania komórek NSCkoB2M w celu uzyskania uniwersalnych komórek nerwowych (dokumentacja kolonii iPSCkoB2M pod mikroskopem świetlnym, Ryc. 7; barwienie immunocytochemiczne B2M oraz TRA-1-60, marker pluripotencji, Ryc. 8).

Pan mgr. Damian Ciunowicz jest współautorem publikacji przeglądowej (praca przeglądowa w recenzji; poza tym pracy przeglądowej doi: 10.1155/2022/5969536 i pracy oryginalnej doi: 10.1016/j.bbrc.2023.149133); uczestniczył w badaniach prowadzonych przez jednostkę macierzystą (wyszczególniony udział w dwóch projektach), wypełniając tym samym pozostałe punkty harmonogramu IPB.

On the basis of the documentation submitted for evaluation regarding the activity of education at the International Doctoral School of the Medical University of Lodz, the committee assess the doctoral student positively. The doctoral thesis aims to obtain neurons and cardiomyocytes that will become immunologically universal by removing the gene encoding β -2 microglobulin (B2M).

According to the IRP information, during two years of education in an International Doctoral School (academic years 2022/2023 and 2023/2024), ten interrelated tasks have been planned, encompassing i.e., design of gRNA sequences for the CRISPR method based on the lentivirus expression system, with isolation; differentiation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) into neural stem cells (NSCs); deletion of the gene encoding B2M in NSCs with verification; differentiation of universal NSCs into universal neurons along with functional and image analysis; reprogramming of universal NSCs into universal iPSCs along with functional and image analysis; review article publication and participation in a conference; participation in project within the unit research work.

The following research goals were achieved:

1. NSC cells as a result of iPSC cell differentiation;

2. NSC cells with the knock-out of the gene coding for immunoglobulin $\mu 2$, using the CRISPR method based on a lentiviral expression system, for which appropriate gRNA sequences were designed and lentiviral vectors with removed B2M gene, were obtained; the results were experimentally verified, both at the mRNA and protein level (Fig. 1, Fig. 2);

3. universal neurons from NSCkoB2M cells (documented by immunocytochemical staining for MAP-2, TH, Ryc. 4);

4. initiating reprogramming of NSCkoB2M cells to obtain universal nerve cells (documented by images presenting iPSCkoB2M colonies, Fig. 7; B2M and TRA-1-60 documented by immunocytochemical staining, Fig. 8).

Additionally, Mr. Ciunowicz is a co-author of publications (review in revision: review: doi: 10.1155/2022/5969536; original work: doi: 10.1016/j.bbrc.2023.149133); participated in two projects conducted within a frame of unit research, that fulfill the IPB schedule; participated in the conference.

Opinia dotycząca jakości opieki naukowej i wsparcia w prowadzeniu działalności naukowej
/ Opinion concerning scientific guidance and support in conducting scientific activities

Promotor / Supervisor DR HAB. N. MED. EWELINA STOCZYŃSKA-FIDELUS
BARDZO DOBRA / VERY GOOD

Ocena prezentacji osiągnięć doktoranta i dyskusja naukowa / Assessment of Presentation of Achievements and scientific discussion

DAMIAN CIUNOWICZ Prezentacja osiągnięć i dyskusja naukowa / Presentation of Achievements and scientific discussion	Ocena / Assesment
Prezentacja osiągnięć doktoranta / PhD student's Presentation of Achievements	BARDZO DOBRA /VERY GOOD
Dyskusja naukowa / Scientific discussion	BARDZO DOBRA /VERY GOOD