Prof. dr hab. Jacek Jemielity
Laboratorium Chemii Bioorganicznej
Centrum Nowych Technologii
Uniwersytet Warszawski
e-mail: j.jemielity@cent.uw.edu.pl
tel. 22 5543774

Warszawa 08.09.2020

Ocena dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej zatytułowanej "Opracowanie technologii selektywnej wizualizacji enzymów proteolitycznych w aktywomie" doktora Marcina Poręby

Dr Marcin Poręba jest absolwentem Wydziału Chemicznego, Politechniki Wrocławskiej, gdzie uzyskał stopień magistra na podstawie pracy magisterskiej pt.: „Substrate mapping of the malaria leucyl aminopeptidase using substrates library"" wykonanej pod kierunkiem prof. Marcina Drąga. W 2014 roku uzyskał stopień naukowy doktora nauk chemicznych w tej samej jednostce i pod opieką tego samego promotora na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Projektowanie i synteza bibliotek substratów zawierających naturalne i nienaturalne aminokwasy dla ludzkich proteaz cysteinowych z grupy kaspaz i katepsyn". Ten okres życia naukowego młodego badacza zaowocował imponującym dorobkiem naukowym (14 publikacji o sumarycznym IF 72,6). Po doktoracie Dr Poręba pracował rok w macierzystej jednostce na stanowisku asystent naukowo-dydaktycznego, po czym wyjechał na 27 miesięczny staż podoktorski w Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute, La Jolla, CA, USA w grupie prof. Guya Salvesena. Ten staż badawczy był z pewnością dla Dr Poręby olbrzymią inspiracją do zajęcią się wizualizacja aktywności enzymów proteolitycznych i tę tematykę z z dużym powodzeniem i licznymi sukcesami rozwijał po prowrocie do Polski. Po powrocie do Alma Matter Dr Poręba początkowo kontynuował pracę jako asystent, aby w roku 2018 awansować na stanowisko adiunkta na którym pracuje do chwili obecnej. W międzyczasie odbył dodatkowo krótkoterminowy staż w The University of Western Australia, Perth (Australia).

Ocena cyklu publikacji

Do osiągnięcia naukowego zatytułowanego "Opracowanie technologii selektywnej wizualizacji enzymów proteolitycznych w aktywomie" kandydat zakwalifikował 11 prac, z których 9 to prace oryginalne w tym jedna o charakterze protokołu, aa dwie to prace przeglądowe. Wszystkie prace zostały opublikowane w latach 2015 — 2020 wyłącznie w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, o sumarycznej wartości IF = 107 (a jeśli uwzględnimy fakt, że praca H5, właśnie została przyjęta do JACS sumIF = 121,4) , co przeliczeniu na jedną pracę daje IF ~ 11 i jest to wynik imponujący. Pomimo, że prace składające się na osiągnięcie ukazały się w przeciągu ostatnich 5 lat, to już były cytowane 121 razy, co świadczy o tym, że to badania z głównego nurtu zainteresowań stosunkowo nowej dziedziny wiedzy z pogranicza chemii i biologii jaką jest chemia biologiczna.

We wszystkich pracach składających się na oceniane osiągnięcie naukowe Habilitant miał udział kluczowy: jedna praca jest jednoautorska, w dziewięciu pracach jest wymieniony jako pierwszy współautor, przy czym w 8 z nich jest jednocześnie autorem współkorespondencyjnym, natomiast w jednej pracy jest wyłącznym autorem korespondencyjnym. Tematyka badawcza wchodząca w zakres osiągnięcia naukowego Habilitanta dotyczy rozwijania metod pozwalających na śledzenie aktywności proteaz w komórkach. Kandydat postawił sobie ambitne zadanie zbadania aktywomu proteaz w komórkach, czyli zbadanie występowania aktywnych proteaz w różnego rodzaju komórkach. Aby to było możliwe konieczne jest stworzenie niezwykle selektywnych sond molekularnych, selektywność ta została zapewniona m. in. przez zastosowanie bibliotek substratów i inhibitorów składających się z peptydów zawierających również nienaturalne aminokwasy. Ten aspekt Kandydat zaczął rozwijać jeszcze w okresie przed doktoratem. Po drugie niezwykle ważnym elementem tej układanki jest dostępność odpowiednich metod analitycznych o odpowiedniej czułości, które pozwalają monitorować aktywność proteaz w komórkach bez ich uprzedniej lizy. Do takich metod należą mikroskopia fluorescencyjna oraz cytometria przepływowa. Kombinacja tych dwóch czynników doprowadziła dr Porębę do bardzo istotnych osiągnięć zarówno w kontekście rozwoju metodologii, jak również poszerzenia wiedzy o tak ważnej grupie enzymów jakimi są proteazy.

Wśród prac składających się na osiągnięcie habilitanta pierwsza dotycząca selektywnej wizualizacji jest praca dotycząca proteazy cysteinowej, ludzkiej legumainy opublikowana w *Cell Chemical Biology.* W ramach tej pracy dr Poręba opracował tetrapeptydowy marker chemiczny do selektywnej wizualizacji aktywnej legumainy w żywych komórkach oraz w lizatach komórkowych, który nie wykazywał krzyżowej reaktywności z kaspazami oraz katepsynami. Marker został wykorzystany do wizualizacji aktywności tej proteazy w apoptotycznych komórkach M38L. W kolejnej pracy Poręba i współpracownicy opracowali metodę wizualizacji aktywności katepsyny L, która jest jedną z 11

katepsyn cysteinowych występujących u człowieka. Katepsyny odgrywają istotna rolę w wielu chorobach włączając w to choroby nowotworowe i stanowią cele terapeutyczne w terapiach przeciw tym chorobom. Jednak mimo to aktualnie nie ma leków celującym w te białka, co zapewne wynika po części z problemów z ich selektywnością. Z drugiej strony nadekspresja katepsyn jest obserwowana w przypadku wielu nowotworów, dzięki czemu stanowi atrakcyjny cel diagnostyczny. Z tego powodu opracowanie markera chemicznego do selektywnej wizualizacji i lokalizacji komórkowej metodą fluorescencji aktywnej katepsyny L uważam za duże osiągniecie. Użyteczność opracowanego markera pokazano na przykładzie komórek raka piersi (MDA-MB-231), a wyniki tych badań opublikowano w prestiżowym Chemical Science (2018). Kolejna praca, opublikowana w roku 2019 również w Chemical Science dotyczyła wizualizacji aktywnej katepsyny B. Użyteczność opracowanego markera pokazano na kilku laboratoryjnych liniach komórkowych ale również komórkach raka płuc pochodzących od pacjenta.

Kolejny poziom zaawansowania dr Poręba i współpracownicy osiągnęli w pracy H5, która dosłownie kilka dni temu została zaakceptowana do publikacji w JACS. Praca ta wnosi przede wszystkim postęp pod względem metodologicznym, ponieważ wykorzystuje bardzo nowatorską technikę badawczą, cytometrię masową, łączącą w sobie zalety cytometrii przepływowej i spektrometrii mas. W technice tej zamiast znacznika fluorescencyjnego lub znacznika powinowactwa (np. biotyny) wykorzystuje się kompleksy stabilnych izotopów metali przejściowych, które można wykrywać i oznaczać za pomocą spektrometrii mas. Szeroka gama tych izotopowych znaczników pozwala na badania dużej ilości aktywności enzymatycznych jednocześnie, co jak podkreśla dr Poręba, może prowadzić do określenia dokładnego „odcisku palca" choroby. Koncepcja bardzo interesująca i o olbrzymim potencjale, ograniczona jest jednak możliwościami tworzenia selektywnych sond molekularnych dla poszczególnych enzymów, co jak już podkreślałem wyżej, z konsekwentnie i z powodzeniem jest realizowane przez Habilitanta i jego współpracowników. W omawianej pracy przedstawiono otrzymanie i szerokie wykorzstanie markerów kompatybilnych ze cytometrią masową dla trzech już wcześniej badanych przez Kandydata proteaz: legumainy, katepsyny L i katepsyny B.

Kolejne cztery publikacje wchodzące w skład cyklu prac Habilitanta dotyczą wizualizacji kaspaz za pomocą inhibitorów i markerów chemicznych. Trzy z tych prac zostały opublikowane w specjalistycznym i jednocześnie prestiżowym *Cell Death and Differentiation* a jedna w *Scientific Reports.* Kaspazy są grupą proteaz zaangażowanych w proces apoptozy, czyli zaplanowanej śmierci komórki. Proces ten jest intensywnie badany również dlatego, że jego aktywacja jest pożądana przy terapiach nowotworowych. Kaspazy są więc tak ciekawymi obiekatmi badawczymi jak i stanowiącymi nie lada wyzwanie dla badaczy. Wynika to z szeregu czynników, takich choćby jak pokrywająca się między sobą specyficzność substratowa, czy konieczność aktywacji proteolitycznej i dimeryzacji tych białek niezbędne do osiągnięcia aktywności. Z tego względu szczególnie trzeba docenić osiągnięcia dr

Poręby na tym polu. Udało mu się opracować selektywne narzędzia do badania procesów programowanej śmierci komórki. Na szczególne docenienie zasługuje bardzo selektywny inhibitor kaspazy 2 i jego wykorzystanie w wizualizacji tego enzymu oraz określania roli jaka pełni w komórkach. W cyklu habilitacyjnym dr Marcin Poręba zamieścił również opublikowana w *Nature Protocols* procedurę opracowania selektywnego markera chemicznego na podstawie analizy wyników uzyskanych dzięki hybrydowym bibliotekom substratów zawierających zarówno naturalne jak i nienaturalne aminokwasy, co przedstawiono na przykładzie legumainy. Cykl publikacyjny dopełniają dwie prace przeglądowe, z których jedna opublikowana w prestiżowym Chemical Reviews oraz jednoautorska praca w *Chemical Biology,* które to opisują różne aspekty wykorzystania małocząsteczkowych związków do badań proteaz i procesów w których enzymy te pośredniczą, można śmiało więc powiedzieć, że prace te dotyczą bezpośrednio tematyki, w której dr Poręba jest ekspertem światowej klasy.

Osiągnięcia badawcze uzyskane w ramach prac zebranych jako dzieło habilitacyjne kandydata możnaby dalej wymieniać i przywoływać dalsze przykłady rozwijania metodologii badania proteaz i przykłady wykorzystywania tej metodyki do rozwiązywania problemów biologicznych. Jednak z punktu widzenia roli tej recenzji istotniejsze wydaje się to, że z tych badań wyłania się obraz dojrzałego badacza, świadomego znaczenia narzędzi oraz metod badawczych, które rozwija. Potrafi je doskonale sam wykorzystać jak też udostępnić innym naukowcom. Z dużą przyjemnością można obserwować rozwój warsztatu naukowego dr Poręby, który osiągnąwszy niemal perfekcję w tworzeniu bardzo selektywnych narzędzi molekularnych, pokazuje ich coraz ciekawsze zastosowania biologiczne lub diagnostyczne, zaprzęgając do tego coraz bardziej wyrafinowaną aparaturę badawczą.

Ocena dorobku naukowego

Według bazy Web of Science Core Collection na całkowity dorobek publikacyjny dr Marcina Poręby składa się 50 publikacji z listy JCR, z czego 36 ukazało się po uzyskaniu stopnia doktora. Indeks Hirsha Habilitanta wynosi 21, a jego prace były cytowane 1001 razy (809 cytowań obcych) – dane na dzień 8 września 2020. Dorobek naukowy Habilitanta zdecydowanie więc przekracza typowe osiągnięcia naukowe na tym etapie kariery, mimo że czas który upłynął od obrony doktoratu jest bardzo krótki (niewiele ponad 5 lat). Również parametry bibliometryczne takie jak H-indeks oraz liczba cytowań są bardzo wysokie jak na ten etap kariery i świadczą o bardzo dużej dynamice rozwoju i potencjale naukowym Kandydata.

Habilitant posiada bardzo dobrą skuteczność w zdobywaniu środków na badania naukowe, które są niezbędne do realizacji własnych pomysłów naukowych i prowadzenia samodzielnych badań na światowym poziomie. Zdobyte środki potrafi skutecznie wykorzystywać i granty rozliczać bardzo

dobrymi publikacjami. Marcin Poręba był dotychczas kierownikiem trzech grantów finansowanych ze środków NCN (PRELUDIUM, SONATA, OPUS), jednego ze środków MNiSW (IUVENTUS) oraz prestiżowego grantu finansowanego z budżetu Komisji Europejskiej w ramach projektu grantowego Marie Skłodowska-Curie Global Fellowship.

Dodatkowo, dr Poręba uczestniczył jako wykonawca w innych projektach naukowych kierowanych przez swoich współpracowników (HARMONIA NCN kierowany przez Prof. Drąga oraz R01 NIH kierowany przez prof. Guya S. Salvesena). Za swoją działalność naukową dr Poręba był wielokrotnie nagradzany w Polsce i za granicą, w tym otrzymał Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla Najlepszych Doktorantów (2014) oraz dla dla Wybitnych Młodych Naukowców (2017), Stypendium START FNP (2013, 2014). W autoreferacie nie znalazłem informacji na temat wygłoszonych wykładów oraz wykonywania recenzji dla czasopism naukowych, ale nie wątpię, że taka aktywność naukową dr Poręba ma również a na swoim koncie.

Ocena działalności dydaktycznej i popularyzatorskiej

Dr Marcin Poręba pomimo licznych aktywności naukowych nie zaniedbuje również działalności dydaktycznej oraz popularyzatorskiej. Prowadzi on zajęcia ze studentami Wydziału Chemicznego na kierunkach Chemia oraz Biotechnologia. Od 2019 roku prowadzi wykład z Chemii Biologicznej. Jest autorem dwóch autorskich kursów dydaktycznych, które wynikają bezpośrednio z naukowych zainteresowań Laboratorium Chemii Biologicznej oraz Fluorescence Spectroscopy and Bioimaging. Dr Poręba posiada również duże doświadczenie w kierowaniu pracą młodszych uczestników badań naukowych, był opiekunem naukowym doktoratu Wioletty Rut, a obecnie pełni rolę promotora pomocniczego dwóch doktoratów (Katarzyna Groborz, Natalia Horbach). Habilitant był również opiekunem 12 prac inżynierskich, a obecnie jest promotorem 3 prac inżynierskich, 3 magisterskich. Co bardzo ważne dr Poręba nie unika aktywnościi związanych z popularyzacją nauki, angażując się w Dolnośląski Festiwal Nauki podczas którego kilku edycji dzielił się swoją wiedzą i pasją naukową z otoczeniem społecznym, w tym młodzieżą zainteresowana nauką. To bardzo ważny, a często nie doceniany aspekt działalności naukowej. Całą tę część działalności Dr Poręby oceniam bardzo pozytywnie.

Wniosek końcowy

Podsumowując, nie mam wątpliwości, że dr Marcin Poręba jest dojrzałym badaczem, ze sprecyzowanym obszarem zainteresowań naukowych stanowiącym niezwykle aktualną i nowoczesną tematykę. Jest też badaczem gotowym do prowadzenia samodzielnych badań na światowym poziomie

i włączania w nie młodszych adeptów nauki. Na podstawie przedstawionych mi do oceny materiałów stwierdzam, że dorobek naukowy oraz osiągnięcie naukowe zaprezentowane jako rozprawa habilitacyjna dr Marcina Poręby są na jego etapie kariery pod wieloma względami wyróżniające. W mojej ocenie spełniają one wszelkie wymagania zwyczajowe oraz ustawowe z nawiązką i w pełni popieram jego wniosek do Rady Doskonałości Naukowej o nadanie stopnia doktora habilitowanego.