

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 27.02.2023

Ocena dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej zatytułowanej "Badania nad aktywnością proteaz sygnałowych układu odpornościowego za pomocą narzędzi chemicznych" Dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej

Dr inż. Paulina Kasperkiewicz-Wasilewska jest absolwentką Wydziału Chemicznego, Politechniki Wrocławskiej, gdzie uzyskała stopień magistra biotechnologii na podstawie pracy magisterskiej pt.: „Synteza inhibitorów ludzkiej neutrofilowej elastazy o strukturze ogólnej R-N(H)-AlaP(OAr)₂” wykonanej pod kierunkiem dr. hab. Inż. Marcina Sieńczyka. W 2014 roku uzyskała stopień naukowy doktora nauk chemicznych w tej samej jednostce pod opieką prof. dr hab. Marcina Drąga na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Kombinatoryczna synteza bibliotek fluorogenicznych substratów zawierających nienaturalne aminokwasy dla proteaz serynowych na przykładzie ludzkiej neutrofilowej elastazy”. Już okres sprzed uzyskania doktoratu sugerował, że mamy do czynienia z młodą ambitną badaczką, o czym świadczy dorobek publikacyjny obejmujący 7 publikacji naukowych o sumarycznym współczynniku oddziaływania (IF) ~31, a wśród tych prac na szczególną uwagę zasługuje praca w PNAS z 2014 roku z dr Kasperkiewicz jako pierwszą autorką cytowana obecnie już ponad 120 razy.

Po doktoracie, w okresie 2015 - 2017 dr inż. Kasperkiewicz - Wasilewska została zatrudniona na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego w macierzystej jednostce, w trakcie tego okresu dwukrotnie wyjeżdżała na staż podoktorski do laboratorium prof. Guy Salvesena w Sanford-Burnham-Prebys Medical Discovery Institute, La Jolla, Kalifornia, USA, początkowo na okres kilku miesięcy, a

później na okres dwuletni. Pobyt w tak znakomitym ośrodku badawczym, z całą pewnością miał istotny wpływ na dalszy rozwój naukowy Kandydatki, pozwolił do ekspertyzy chemicznej dołączyć również pogłębiony warsztat biologiczny, co zapoczątkowało na dalszych etapach rozwoju naukowego.

Po powrocie z USA w 2017 roku dr Kasperkiewicz - Wasilewska została zatrudniona w macierzystej jednostce na stanowisku adiunkta na którym pracuje do chwili obecnej.

Ocena cyklu publikacji

Do osiągnięcia naukowego zatytułowanego "Badania nad aktywnością proteaz sygnałowych układu odpornościowego za pomocą narzędzi chemicznych" Kandydatka zakwalifikowała 8 prac z których 6 to prace oryginalne, oraz dwie prace przeglądowe, opublikowanych w latach 2015 — 2021 w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, o sumarycznej wartości $IF = 42,8$, co przeliczeniu na jedną pracę daje $IF = 5,35$ i jest to wynik bardzo dobry. Pomimo, że prace składające się na osiągnięcie ukazały się w przeciągu ostatnich 8 lat, to w momencie składania wniosku były już cytowane 163 razy, co jest najlepszym miernikiem rozpoznawalności ich współautorki w środowisku naukowym. Na podstawie pozycji na listach współautorów, roli wiodącej w pracach, że we wszystkich pracach składających się na oceniane osiągnięcie naukowe Habilitantka miała udział kluczowy: w pracach tych 6-krotnie była pierwszą (współ)autorką, 7-miokrotnie autorką współkorespondencyjną, w trzech jest wyłączną autorką korespondencyjną, a jedna z prac jest jednoautorska. Oświadczenia współautorów również nie pozostawiają wątpliwości co do kluczowej roli Habilitantki w przedstawionym cyklu prac.

Tematyka badawcza wchodząca w zakres osiągnięcia naukowego Habilitantki dotyczy proteaz zaangażowanych w funkcjonowanie układu immunologicznego, w szczególności tych znajdujących się w wybranych komórkach żernych: neutrofilach, makrofagach, komórkach NK i komórkach CLT.

Aktywność proteaz układu odpornościowego jest niezwykle istotna z punktu widzenia ochrony organizmu przed patogenami, ale może również powodować niepożądane skutki. Zbyt duża aktywność proteaz powoduje niepożądane zmiany w szlakach sygnałowych, a co za tym idzie negatywne skutki dla organizmu, jak rozwój różnych zaburzeń, w tym chorób autoimmunologicznych i niedoborów odporności. Z tego powodu proteazy są uważane za ważne biologiczne markery diagnostyczne oraz cele terapeutyczne, a syntetyczne inhibitory potencjalne terapeutyki. To sprawia, że zagadnienia poruszane w pracach wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego są istotne z punktu widzenia poznawczego, jak i mogą mieć swoje konsekwencje aplikacyjne.

Wśród prac składających się na osiągnięcie habilitantki znajduje się sześć prac oryginalnych oraz dwie prace przeglądowe. Pierwsza z prac oryginalnych oznaczona jako H1, która ukazała się w *PLoS One* dotyczy syntezy i charakterystyki pierwszego selektywnego substratu oraz niskocząsteczkowego markera chemicznego dla neutrofilowej serynowej proteiny 4 (NSP4), proteazy

układu immunologicznego, która niedawno odkryta jest dość słabo zbadana, a ma dość nieoczywistą specyficzność substratową. Autorom pracy, stosując podejście wysokoprzepustowe badania oparte o odpowiednio zaprojektowaną bibliotekę substratów udało się opracować substrat o bardzo dobrych parametrach kinetycznych, na podstawie którego zaprojektowano i otrzymano selektywną dla tego enzymu ABP (Affinity Binding Probe). Zastosowanie tego związku w dalszych badaniach pozwoliło na określenie mechanizmu działania w stosunku do NSP4, oraz wykazano możliwość stosowania sondy przy fizjologicznych stężeniach badanej proteazy.

Na szczególną uwagę zasługuje praca H2 z 2017 opublikowana w prestiżowym Journal of the American Chemical Society, która zyskała już 53 cytowania. W pracy tej Kandydatka wraz ze współpracownikami opracowali specyficzne niskocząsteczkowe sondy chemiczne (ABP) do badania poszczególnych NSPs (NE, PR3, CatG lub NSP4). Sondy specyficzne dla poszczególnych proteaz (z pewnymi ograniczeniami dla NE) były wyznakowane fluorescencyjnie barwnikami o różnych właściwościach fluorescencyjnych pozwalających na niezależne monitorowanie aktywności poszczególnych enzymów. Tak opracowany zestaw narzędzi pozwolił na bardzo interesujące badania komórkowe, z których wynika, że sondy mogą być przydatne diagnostycznie, pozwalają na ilościowe oznaczanie poszczególnych proteaz oraz lokalizację, która okazuje się być nierównomierna w ziarnistościach neutrofilii.

Kolejna praca oryginalna (H5) opublikowana w Journal of Biological Chemistry w roku 2020, ma charakter bardziej biologiczny, choć oczywiście bazuje na unikalnych narzędziach molekularnych stworzonych wcześniej, które są podstawową kompetencją Habilitantki. Jednak widać pozytywne efekty stażu w Laboratorium Prof. Salvesena, w postaci bardziej pogłębionych badań komórkowych. To bardzo ważne, że dr Kasperkiewicz-Wasilewska nabyła takie kompetencje to z pewnością pozwoli w przyszłości planować projekty bardziej całościowo od projektowania i tworzenia narzędzi, po ich zastosowanie w odpowiadaniu na pytania biologiczne, czy medyczne. W każdym bądź razie w tej pracy zbadano biologiczne funkcje aktywności proteaz w neutrofilach, pokazując że sondy NSPs mogą być cennymi narzędziami w badaniach NETozy, bardzo ciekawego mechanizmu ochrony immunologicznej angażującego DNA komórkowe jako swego rodzaju pułapki na patogeny bakteryjne. Autorzy wykazali, że NPSs nie mają kluczowego znaczenia w tym procesie, a przynajmniej nie wynika to z ich aktywności katalitycznej.

Kolejne dwie prace (H8 opublikowana w J. Med. Chem. oraz H7 opublikowana w J. Biol. Chem. obydwie w roku 2020) poświęcone są badaniu proteaz serynowych, które Autorka określa jako „trudniejsze” mianowicie granzymom A i B. Są to proteazy znane między innymi z indukowania procesu apoptozy ale również innych ważnych procesów związanych z neutralizacją patogenów.

W pierwszej z tych prac poświęconej narzędziom do badań granzymu A (GrA) opisano opracowanie pierwszej fluorescencyjnej sondy chemiczną do wykrywania aktywności tego enzymu. Autorzy wykazali selektywne wiązanie z dużym powinowactwem do miejsca aktywnego. Wyselekcjonowana sonda spełnia wszelkie wymagania stawiane dla sond do zastosowań w badaniach komórkowych, czyli takich jak dobra przenikalność przez błony czy niska cytotoksyczność.

W drugiej z tych prac, opracowano zestaw narzędzi molekularnych do badania funkcji GrB w komórkach NK obejmujący substraty, inhibitor, ABP oparte na inhibitorze, oraz substrat fluorescencyjny aktywowany przez enzym. Autorzy zaprezentowali sposoby wykorzystania tych narzędzi w tym nieinwazyjną wizualizację GrB za pomocą aktywowanego enzymatycznie substratu fluorescencyjnego.

Ostatnia z prac oryginalnych cyklu (H4) to praca opublikowana w Scientific Reports w roku 2018, a poświęcona proteazie MALT1 (ang. mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1), występującej w komórkach układu odpornościowego. W przypadku tej proteazy wyzwaniem jest jego niska zawartość komórkowa, co komplikuje jego badania in vivo. To wymagało opracowania sondy o wysokiej czułości, co też zostało wykonane i opisane w tej pracy. W ramach tych badań opracowano profil specyficzności substratowej w pozycjach P5-P2', co pozwoliło na opracowanie specyficznej ABP dla tego enzymu. Opracowana sonda pozwala na wykrywanie MALT1 w lizatach komórkowych jak również obrazowanie w komórkach.

Dwie ostatnie prace z cyklu habilitacyjnego to prace przeglądowe ściśle związane z zagadnieniami dotyczącymi proteaz powiązanych z układem immunologicznym. Pierwsza (H3, FEBS J., 2017) ma charakter bardziej ogólny i dotyczy wyzwań w projektowaniu selektywnych substratów, inhibitorów i sond dla proteaz. Druga jednoautorska praca przeglądowa (H6) opublikowana w Frontiers in Chemistry z roku 2021 skupia się z kolei na technikach obrazowania proteaz serynowych ze szczególnym uwzględnieniem proteaz układu immunologicznego.

Należy podkreślić, że w tym przypadku cykl habilitacyjny stanowi w bardzo naturalny sposób spójne badania, co nie stanowi reguły w rozprawach habilitacyjnych. Cykl ten pokazuje również w jaki sposób Habilitantka doprowadziła do perfekcji projektowanie selektywnych narzędzi na bazie bibliotek kombinatorycznych zawierających peptydy z nienaturalnymi aminokwasami (kompetencje nabyte jeszcze w czasie wykonywania doktoratu pod kierunkiem Prof. Drąga) dla proteaz o nawet bardzo zbliżonej specyficzności substratowej. Z drugiej jednak strony nadała tworzonym przez siebie narzędziom nowe znaczenie, wykorzystując je do pogłębionych badań biologicznych, obejmujących badanie aktywności, obrazowanie komórkowe i poznawanie funkcji proteaz układu immunologicznego. Połączenie tych kompetencji zapewnia jej pewną przewagę na tym polu w stosunku do laboratoriów konkurencyjnych i z pewnością jest to obszar warty dalszej eksploracji naukowej.

Warto przy tej okazji podkreślić, że autoreferat jest bogaty merytorycznie z obszernym wstępem oraz został przygotowany w sposób bardzo profesjonalny z dużą starannością i przejrzystością, co bardzo ułatwiło ocenę osiągnięć i dorobku Kandydatki, a także znaczenie przedstawionych badań.

Ocena dorobku naukowego

Według bazy Scopus całkowity dorobek publikacyjny dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej w momencie składania wniosku składał się z 34 publikacji z listy JCR o sumarycznym IF=210, z czego 27 prac ukazało się po doktoracie. Indeks Hirsha Habilitantki wynosi 17, a jej prace były cytowane 910 razy (774 cytowań obcych). Dorobek naukowy Habilitantki jest więc bardzo solidny zarówno pod względem jakościowym jak i ilościowym. Przekracza typowe osiągnięcia naukowe na tym etapie kariery, nawet jeśli nie weźmiemy pod uwagę przerwy spowodowanej urlopem macierzyńskim. Również parametry bibliometryczne takie jak H-indeks oraz liczba cytowań są bardzo wysokie jak na ten etap kariery i świadczą o rozpoznawalności naukowej dr Kasperkiewicz na arenie międzynarodowej.

Badania naukowe na wysokim poziomie nie są możliwe bez solidnego finansowania, a to stwierdzenie szczególnie prawdziwe jest w obszarze chemii biologicznej, który to obejmuje badania prowadzone przez dr Kasperkiewicz. Kandydatka zdeje się podzielać ten pogląd gdyż skutecznie pozyskuje środki na badania oraz uczestniczy w projektach kierowanych przez innych naukowców (Prof. Drąga, Prof. Salvesena). Dr inż. Paulina Kasperkiewicz-Wasilewska był dotychczas kierownikiem trzech grantów finansowanych ze środków NCN (PRELUDIUM, SONATA, SONATA BIS, OPUS) oraz jednego ze środków FNP (HOMING). Warto też wspomnieć o zaangażowaniu Kandydatki w duży projekt TEAM-NET, o tematyce komplementarnej do cyklu habilitacyjnego, finansowany przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej, a realizowany we współpracy trzech ośrodków naukowych (Politechnika Wrocławska, Uniwersytet Jagielloński oraz Uniwersytet Medyczny w Łodzi), co jest znakomitą okazją do wymiany doświadczeń z zespołami o mocnych kompetencjach biologicznych i medycznych.

Bogata działalność naukowa dr Kasperkiewicz była dostrzegana w kraju i za granicą o czym świadczą liczne nagrody i wyróżnienia. Warto tu wspomnieć o takich nagrodach jak Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla Wybitnych Młodych Naukowców (2017), Nagroda L'Oreal-UNESCO dla kobiet i nauki (2018) Stypendium START FNP (2015, 2016) oraz Srebrny Krzyż Zasług (2020). W autoreferacie nie znalazłem informacji na temat wygłoszonych wykładów oraz wykonywania recenzji dla czasopism naukowych, o tego typu aktywnościach również warto się pochwalić w autoreferacie.

Ocena działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej i organizacyjnej

Dr inż. Paulina Kasperkiewicz - Wasilewska ma również osiągnięcia nie tylko na polu naukowym ale również w działalności dydaktycznej oraz popularyzatorskiej. Prowadzi szereg zajęć ze studentami

Wydziału Chemicznego. Prowadzi autorski wykład z Metod analitycznych w biotechnologii II wraz z laboratorium, jak również liczne laboratoria (Mikrobiologia II, Projektowanie syntez organicznych, Podstawy chemii organicznej, Projektowanie związków biologicznie czynnych), seminaria (Chemia Biologiczna), ćwiczenia (Biochemia). Niestety nie odnalazłem informacji na temat zakresu godzinowego tych zajęć oraz ile cykli zajęć zostało przeprowadzonych. Imponujący na tym etapie kariery jest dorobek w obszarze współpracy ze studentami i doktorantami. Habilitantka była/jest opiekunką 6 prac inżynierskich, 10 prac magisterskich oraz współopiekunką dwóch doktoratów obronionych i 6 kolejnych w trakcie realizacji. Co ważne dr Kasperkiewicz nie unika aktywności związanych z popularyzacją nauki, angażując się w Dolnośląski Festiwal Nauki oraz wykłady i pokazy dla szkół. Warto również wspomnieć o działalności organizacyjnej na rzecz środowiska naukowego w Polsce i za granicą. Dr Kasperkiewicz była współorganizatorką „Gordon Research Seminar on Proteolytic Enzymes and their Inhibitors”. Jak również warto wspomnieć o jej członkostwie w zarządzie Klubu Stypendystów Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej. W ramach tej aktywności współorganizowała dwie edycje zjazdu Klubu, a ponieważ mam zaszczyt być jego członkiem i w obydwu współorganizowanych zjazdach uczestniczyć, więc miałem okazję obserwować efekty tej działalności organizacyjnej i oceniam je z pełnym przekonaniem bardzo pozytywnie. Te wszystkie aspekty działalności okołonaukowej należy docenić i ocenić pozytywnie.

Wniosek końcowy

Podsumowując, nie mam wątpliwości, że dr inż. Paulina Kasperkiewicz - Wasilewska jest dojrzałą i utalentowaną badaczką, o ugruntowanej już pozycji w swoim obszarze naukowym, który stanowi bardzo aktualną tematykę badawczą w bardzo konkurencyjnej i intensywnie rozwijającej się dziedzinie chemii biologicznej. Już na obecnym etapie Kandydatka udowodniła, że jest przygotowana do prowadzenia prac magisterskich i doktorskich wysokiej jakości. Udowodniła również swoje umiejętności w budowaniu warsztatu naukowego, zdobywaniu funduszy na realizację ambitnych projektów i publikowaniu rezultatów ich realizacji w czołowych czasopismach w dziedzinie, można więc bez odrobiny przesady nazwać ją samodzielną badaczką w pełni gotową na kolejny etap kariery naukowej. Na podstawie przedstawionych mi do oceny materiałów stwierdzam, że dorobek naukowy oraz osiągnięcia naukowe zaprezentowane jako rozprawa habilitacyjna dr inż. Pauliny Kasperkiewicz - Wasilewskiej są na jej etapie kariery pod wieloma względami wyróżniające. W mojej ocenie spełniają one wszelkie wymagania zwyczajowe oraz ustawowe z nawiązką i w pełni popieram jej wniosek do Rady Doskonałości Naukowej o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

