

Prof. dr hab.
Sylwia Rodziewicz-Motowidło
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 8.02.2023 r.

RECENZJA

całokształtu dorobku naukowego oraz rozprawy habilitacyjnej
dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej
pt.: „Badania nad aktywnością proteaz sygnałowych układu odpornościowego za pomocą
narzędzi chemicznych”

Informacje ogólne oraz ocena dorobku naukowego

Dr inż. Paulina Kasperkiewicz-Wasilewska jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej (PWr), gdzie w 2010 roku obroniła pracę magisterską pt.: „Synteza inhibitorów ludzkiej neutrofilowej elastazy o strukturze ogólnej R-N(H)-Ala^P(OAr)₂” (promotor – dr hab. inż. Marcin Sieńczyk). Następnie w 2014 roku uzyskała stopień doktora nauk chemicznych na podstawie rozprawy pt.: „Kombinatoryczna synteza bibliotek fluorogenicznych substratów zawierających nienaturalne aminokwasy dla proteaz serynowych na przykładzie ludzkiej neutrofilowej elastazy” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Marcina Drąga, również na Wydziale Chemicznym PWr. Warto zaznaczyć, że jej praca doktorska została wyróżniona. W roku 2015 została zatrudniona w tej samej jednostce na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego a od roku 2017 do chwili obecnej na stanowisku adiunkta naukowo-dydaktycznego. W roku 2014 odbyła miesięczny staż naukowy na Uniwersytecie w Cambridge (Cambridge, Anglia) w laboratorium prof. Jamesa Huntingtona. Po uzyskaniu stopnia doktora odbyła sześciomiesięczny staż naukowy w Sanford-Burnham-Prebys Medical Discovery Institute (La Jolla, USA) w laboratorium prof. Guy Salvesena. Staż ten realizowała w ramach samodzielnie pozyskanych funduszy w konkursie SKILLS. Do tego samego laboratorium pojechała także w roku 2016 odbywając roczny staż podoktorski. W ramach odbytych staży podoktorskich pogłębiła wiedzę w zakresie nowoczesnych metod biochemicznych do monitorowania aktywności enzymatycznej w

komórkach. Habilitantka uważa, że staż ten był kamieniem milowym w jej karierze naukowej gdyż pozwolił na rozwinięcie nowej ścieżki badawczej w ramach wcześniej prowadzonych przez nią doświadczeń na Wydziale Chemicznym PWr. Zainteresowania naukowe Kandydatki koncentrują się na badaniu nowych, efektywnych metod odróżniania katalitycznie aktywnych od katalitycznie nieaktywnych form enzymów proteolitycznych z wykorzystaniem cząsteczek zwanych fluorescencyjnymi sondami aktywności. Na jej dotychczasowy podstawowy dorobek naukowy składają się trzydzieści cztery współautorskie lub autorskie publikacje w czasopismach z listy Filadelfijskiego Instytutu Informacji Naukowej, których sumaryczny współczynnik wpływu IF wynosi ok. 210. Przed uzyskaniem stopnia doktora, Habilitantka opublikowała 6 a po doktoracie 27 prac (IF ok. 180) z czego 8 publikacji zostało przedstawionych jako dorobek habilitacyjny. Sumaryczny IF prac stanowiących podstawę habilitacji wynosi 42,81 (średnio 5,35 na jedną pracę) a suma punktów MNiSW tych prac wynosi 900 (112,5 na jedną pracę). Łączna liczba cytowań prac wchodzących w cykl habilitacyjny wynosi ok. 163, a z wyłączeniem autocytowań 138. Ogólna liczba cytowań prac Kandydatki, według bazy *Scopus* wynosi ok. 910, bez autocytowań ok. 774 a indeks Hirscha 17. Całkowity dorobek naukowy Kandydatki do stopnia doktora habilitowanego uzupełniają jedna monografia oraz wystąpienia na konferencjach krajowych i międzynarodowych w postaci 4 wykładów na zaproszenie oraz 13 komunikatów ustnych i 13 posterów. Osiągnięcia naukowe dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej zostały uhonorowane licznymi nagrodami i stypendiami. Do najważniejszych, o uznanej randze naukowej zaliczam: Nagroda L'Oréal-UNESCO dla kobiet i nauki (2018), Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla Młodych Wybitnych Naukowców (2017), stypendium START FNP (2016 i 2015). Do osiągnięć Kandydatki w zakresie działalności naukowej zaliczyć można także uczestnictwo w panelach oceniających granty naukowe a także wykonanie licznych recenzji artykułów naukowych w renomowanych czasopismach np. *Nature Communications*, *Scientific Reports*, *Cancers*, *Journal of Medicinal Chemistry* itp. Dr inż. Paulina Kasperkiewicz-Wasilewska to także doskonały menadżer w zakresie pozyskiwania funduszy zewnętrznych na realizację swoich pomysłów naukowych. Dotychczas była kierownikiem trzech projektów badawczych PRELUDIUM (NCN), SONATA (NCN), HOMING (FNP) a obecnie kieruje dwoma projektami OPUS (NCN) i SONATA BIS (NCN). Jest także liderem grupy badawczej w projekcie TEAM-NET (FNP) realizowanym w konsorcjum z innymi jednostkami w Polsce. Uczestniczyła jako wykonawca w realizacji trzech projektów badawczych, w tym jeden z ich był realizowany w USA podczas stażu podoktorskiego. To naprawdę imponujący dorobek grantowy jak na tak młodą osobę.

Na podstawie wyżej opisanych informacji tj. ilości i wysokiej jakości publikacji w których dr inż. Paulina Kasperkiewicz-Wasilewska miała wiodący udział, ilości realizowanych grantów a także szeregu uzyskanych nagród i stypendiów bardzo wysoko oceniam dorobek naukowy Habilitantki. Uważam, że jej dotychczasowa kariera naukowa, z uwzględnieniem drogi uzyskiwania kolejnych stopni i tytułów naukowych, ścieżki zatrudnienia oraz zrealizowanych staży zagranicznych przebiegała prawidłowo i **spełnia z nadmiarem wymagania stawiane Habilitantom.**

Obowiązujące przepisy prawa

Postępowanie jest prowadzone na podstawie zapisu *Ustawy o szkolnictwie wyższym i nauce* z dnia 20.07.2018 roku, w szczególności na podstawie zapisu art. 219 p. 1. Stanowią one co następuje:

Stopień doktora habilitowanego nadaje się osobie, która:

- 1) posiada stopień doktora;
- 2) posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:
 - a) 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub
 - b) 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub c) 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub artystyczne;
- 3) wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Opinia o przedstawionych publikacjach naukowych będących w cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych

Przedstawiona do recenzji rozprawa habilitacyjna jest spójnym tematycznie cyklem 8 publikacji (H1-H8) składających się na osiągnięcie naukowe zatytułowane „Badania nad aktywnością proteaz sygnałowych układu odpornościowego za pomocą narzędzi chemicznych”. Ten tematyczny cykl prac został omówiony w autoreferacie będącym częścią dokumentacji postępowania habilitacyjnego. Warto podkreślić, że przygotowany przez Habilitantkę autoreferat to bogate źródło wiedzy oraz szczegółowy opis uzyskanych wyników naukowych w ramach każdej z prac wchodzącej w osiągnięcie habilitacyjne. Prace te ukazały się w renomowanych czasopismach specjalistycznych, w tym *PLoS One*, *Journal of the American Chemical Society*, *FEBS Journal*, *Scientific Reports*, *Journal of Biological Chemistry* (2 prace), *Frontiers in Chemistry*, *Journal of Medicinal Chemistry*. Warto podkreślić, że czasopisma w których ukazały się publikacje należą do czołowych periodyków z zakresu tematycznego realizowanego przez Habilitantkę. Zakres IF tych czasopism mieści się w zakresie od 3,05 do 14,30, a sumaryczny współczynnik wpływu IF wynosi ok. 42,81. Są to bardzo dobre parametry naukometryczne, spełniające, w mojej ocenie, wymagania stawiane habilitacjom z zakresu chemii. Warto w tym miejscu podkreślić, że większość

z tych publikacji posiada liczne cytowania, co świadczy o bardzo dużym zainteresowaniu tymi badaniami oraz o ich niezwykle dużej wartości naukowej. Siedem publikacji, stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej, posiada charakter wieloautorski. Jedna publikacja jest autorskim dziełem Habilitantki. Należy podkreślić, że dr inż. Paulina Kasperkiewicz-Wasilewska jest pierwszym autorem w sześciu pracach, a w dwóch ostatnim autorem. W siedmiu pracach jest autorem korespondencyjnym. Świadczy to o kluczowym wkładzie Habilitantki w powstanie tych publikacji, na co wskazują również oświadczenia współautorów i dokładny opis wykonanych czynności przez samą Habilitantkę. Kandydatka wykonała lub bezpośrednio nadzorowała (jako promotor lub opiekun prac dyplomowych i doktorskich) większość prac eksperymentalnych w zaprezentowanych publikacjach. Charakter i zakres prac doświadczalnych wykonanych przez dr inż. Kasperkiewicz-Wasilewską w mojej opinii zasługuje na szczególną pochwałę i uznanie. Przebieg kariery naukowej Habilitantki wskazuje na jej bogate doświadczenia w zakresie chemii bioorganicznej i analitycznej, enzymologii, fluorescencji oraz biologii molekularnej i biologii komórki. Kandydatka swobodnie posługuje się wieloma technikami badawczymi. Warto w tym miejscu nadmienić, że publikacje z tzw. cyklu habilitacyjnego obejmują ostatnie lata 2015-2021, co świadczy o bardzo dobrej dynamice publikacyjnej Habilitantki. Prace te, jak na tak niedawną datę ujawnienia, posiadają bardzo dobre parametry cytowań.

Integralną częścią przedstawionej dokumentacji postępowania habilitacyjnego jest autoreferat, który stanowi wprowadzenie do przedmiotowej tematyki oraz omówienie cyklu artykułów stanowiących ośmioletni dorobek naukowy dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej. Autoreferat, choć nieco za długi, w mojej opinii, został przygotowany w sposób wyróżniający pod względem edycyjnym (estetyczny dokument z doskonale przygotowanymi schematami, wzorami, wykresami i zdjęciami), językowym (łatwość czytania napisanego tekstu - dobra stylistyka) oraz przede wszystkim merytorycznym. Autoreferat pełni w mojej ocenie ważną nieformalną rolę, gdyż jest często jedynym elementem przybliżającym „charakter” autora biorąc pod uwagę obecny tryb postępowania habilitacyjnych. W tym kontekście pragnę zauważyć, że autoreferat pokazuje obraz Habilitantki posiadającej doskonałą znajomość tematyki badawczej, umiejętność jasnej prezentacji uzyskanych wyników oraz swobodę poruszania się w obszarze na pograniczu chemii, biologii, biochemii i medycyny.

Tematyka publikacji przedstawionych w cyklu habilitacyjnym obejmuje prace nad nowymi, efektywnymi metodami odróżniania katalitycznie aktywnych od katalitycznie nieaktywnych form enzymów proteolitycznych z wykorzystaniem cząsteczek zwanych fluorescencyjnymi sondami aktywności. Z enzymami Kandydatka „spotkała się” po raz pierwszy podczas realizacji pracy magisterskiej w roku 2010. „Miłość do enzymów” zagościła w jej sercu na dłużej i trwa do dzisiaj. Szczególnie upodobała sobie proteazy układu odpornościowego, dla których poszukiwała czułych sond substratowych podczas realizacji swojego doktoratu. W ramach pracy doktorskiej dodatkowo opracowała i przygotowała biblioteki IQF wykorzystując nienaturalne aminokwasy. Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka postawiła opracować uniwersalną technologię umożliwiającą

selektywne badanie aktywności proteolitycznej wybranych proteaz z wykorzystaniem techniki fluorescencyjnej. W tym celu musiała skonstruować odpowiednio substraty lub inhibitory badanych enzymów, służące jako narzędzia do badania aktywnej formy badanych proteaz. Enzymami którymi się zajmowała w ramach rozprawy habilitacyjnej były proteazy serynowe (NE, CatG, PR3 i NSP4) oraz tzw. enzymy sieroce należące do grupy granzymów i enzym MALT1 należący do proteaz cysteinowych. Wszystkie te białka pełnią funkcje efektorowe w odpowiedzi komórkowej prowadzącej do obrony gospodarza. Występują w komórkach układu odpornościowego a ich nadmierne lub ograniczone działanie związane jest z występowaniem różnych stanów patologicznych. Monitorowanie ilości i/lub aktywności enzymatycznej tych białek może prowadzić do wyjaśnienia powstawania stanów chorobotwórczych lub ich diagnozy. W ramach pracy H1, Habilitantka opracowała pierwszy selektywny substrat oraz niskocząsteczkowy marker chemiczny (PK401) dla enzymu NSP4. Część chemiczną wykonała na PWr natomiast badania biochemiczne zostały wykonane podczas jej pierwszego stażu podoktorskiego, w laboratorium prof. Salvesena (USA). W wyniku przeprowadzonych tam badań pokazała, że PK401 wiąże się selektywnie z aktywną NSP4 oraz, że może być wykorzystany do badań funkcji tego enzymu w komórkach. Praca H2 została opublikowana w prestiżowym czasopiśmie *Journal of the American Chemical Society* i jest uznawana przez Habilitantkę za najważniejszą w jej dorobku naukowym. W ramach tej pracy pokazała, za pomocą skonstruowanych przez siebie sond chemicznych, nierównomierną lokalizację NSPs w ziarnistościach neutrofilii. Okazuje się, że nierównomierna dystrybucja NSPs może mieć kluczowe znaczenie w stanach patofizjologicznych. Kandydatka po raz pierwszy na świecie oznaczyła stężenie poszczególnych NSPs w neutrofilach, co jest w mojej opinii bardzo dużym osiągnięciem naukowym. W kolejnej pracy H5, dr inż. Kasperkiewicz-Wasilewska skupiła się na charakterystyce biologicznych funkcji aktywności proteaz w neutrofilach z wykorzystaniem skonstruowanych przez siebie sond chemicznych. Pokazała, że sondy NSPs są cennymi narzędziami w badaniach NETozy oraz, że nie uczestniczą w tworzeniu NETs. Publikacja ta również powstała podczas stażu podoktorskiego. Kolejne prace Habilitantka realizowała już w Polsce na Politechnice Wrocławskiej. Po powrocie do Polski w roku 2017 otrzymała grant HOMING (FNP) oraz SONATA (NCN), dzięki którym zbudowała biochemiczne zaplecze aparaturowe do realizacji prac takich samych jak w USA. Na początku postanowiła zbadać proteazy należące do rodziny granzymów GrA i GrB. Występują one w komórkach wrodzonego i nabytego układu odpornościowego, w tym w komórkach NK, limfocytach B i limfocytach T. W publikacji H8 opisała pierwszą, selektywną i nietoksyczną fluorescencyjną sondę chemiczną (SK15.5) do wykrywania aktywności GrA. Ponieważ sonda SK15.5 łatwo przechodzi przez błonę to może być w przyszłości stosowana do monitorowania aktywności GrA w żywych komórkach. Tego typu sond jest niewiele tym bardziej jest to ważne osiągnięcie. W pracy H7 Habilitantka badała sondy oparte o substraty i inhibitory do badania aktywności enzymatycznej granzymu GrB. W ramach przeprowadzonych eksperymentów opracowała wydajny substrat i szybko wiążący się inhibitor do badania aktywności enzymatycznej GrB w komórkach typu NK. Pokazała również, że

aktywny granzym GrB przyspiesza śmierć komórek nowotworowych i niestety zablokowanie jego aktywności nie zapobiega śmierci komórek docelowych. W publikacji H4 Habilitantka szukała skutecznej sondy chemicznej do badania proteazy MALT1 (proteazy cysteinowej), występującej w niewielkich ilościach w komórkach układu odpornościowego. Część syntetyczna została wykonana na PWr, natomiast wszystkie badania kinetyczne i komórkowe zostały przeprowadzone podczas stażu podoktorskiego Kandydatki w USA. W ramach tych prac opracowała profil specyficzności substratowej MALT1 w pozycjach P1-P5 oraz P1'-P2' oraz otrzymała sondę chemiczną (PKG105) do wykrywania docelowego enzymu w lizatach komórkowych oraz do obrazowania MALT1 w komórkach. Ostatnie dwie prace z cyklu habilitacyjnego (H3 i H6) to prace przeglądowe w których Habilitantka pełniła wiodącą rolę a w których opisała wyzwania związane z projektowaniem selektywnych substratów, inhibitorów i sond dla enzymów proteolitycznych oraz dokonała przeglądu dostępnych technik obrazowania proteaz serynowych, szczególnie proteaz układu immunologicznego. Warto zauważyć, że prace przeglądowe to również wynik szerokiej wiedzy i doświadczenia dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej, zdobytej w czasie od 2010 do 2022 roku. Warto nadmienić, że oprócz publikacji znajdujących się w cyklu habilitacyjnym Kandydatka posiada bogaty dorobek publikacyjny obejmujący tematykę z zakresu konstruowania sond chemicznych i badania aktywności różnych enzymów.

Publikacje H1 – H8 zostały poddane krytycznej ocenie recenzentów w czasopismach o wysokiej randze naukowej, dlatego moja rola jako recenzenta sprowadziła się głównie do oceny spójności zakresu merytorycznego prowadzonych przez Habilitantkę badań. W mojej opinii zaprezentowane w cyklu publikacje stanowią jeden spójny cykl tematyczny i w pełni uzasadniają starania dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Uważam, że prowadzone przez Habilitantkę badania mają bardzo duży potencjał naukowy a także aplikacyjny. Opracowała unikatowe narzędzia molekularne do badań funkcjonalności i profilu aktywności proteinaz, które mogą znaleźć zastosowanie w monitorowaniu zmian aktywności i lokalizacji tych enzymów w komórkach, jak i podczas odpowiedzi immunologicznej.

Na koniec dodam również, że podczas organizowanej przeze mnie konferencji naukowej w 2017 roku (*Polish Peptide Symposium*) pani dr inż. Kasperkiewicz-Wasilewska wygłosiła komunikat ustny i zwróciła moją uwagę, nie tylko jako doskonały mówca, ale także jako naukowiec z pasją. Prezentowane przez nią wyniki badań na temat sond chemicznych do monitorowania aktywności enzymatycznej zostały wówczas zauważone przez wielu naukowców i były szeroko komentowane podczas konferencji. Już wtedy, kiedy była zaledwie kilka lat po doktoracie zauważyłam w niej olbrzymi potencjał i cieszę się, że dzisiaj mogę oceniać jej doskonały dorobek habilitacyjny.

Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego

Dr inż. Paulina Kasperkiewicz-Wasilewska w ramach działalności dydaktycznej w latach 2014-2022 przeprowadziła: ćwiczenia laboratoryjne z mikrobiologii II (w j. polskim i angielskim),

projektowania syntez organicznych, podstaw chemii organicznej, metod analitycznych w biotechnologii II, a także ćwiczenia audytoryjne z biochemii, chemii biologicznej, projektowania związków biologicznie czynnych i chemii bioorganicznej. Prowadziła również wykłady z metod analitycznych w biotechnologii. Habilitantka była promotorem czterech prac magisterskich w j. polskim i sześciu w j. angielskim oraz opiekunem sześciu prac inżynierskich. Sprawowała bezpośrednią opiekę naukową nad dwoma doktorantami, których była promotorem pomocniczym (obrona w 2020 i 2021 r.). Obecnie tą funkcję sprawuje w przewodach pięciu kolejnych doktorantek. Kandydatka posiada również doświadczenie w popularyzacji nauki w postaci wygłoszonych wykładów lub przeprowadzonych warsztatów dla dzieci. Była członkiem komitetu naukowego i organizacyjnego międzynarodowej konferencji „Gordon Research Seminar on Proteolytic Enzymes and their Inhibitors”, Il Ciocco, Włochy, 2022 r. Jako członek zarządu Klubu Stypendystów Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej współorganizowała zjazdy Klubu (w 2020 i 2021 r.). Habilitantka jest członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego, International Proteolysis Society oraz Academia Iuvenum Politechniki Wrocławskiej.

Wnioski końcowe

Tematyka publikacji przedstawionych przez dr inż. Paulinę Kasperkiewicz-Wasilewską w cyklu habilitacyjnym wpisuje się idealnie w aktualne trendy i wyzwania współczesnej diagnostyki molekularnej. W ramach prowadzonych prac Habilitantka opracowała nowe sondy chemiczne do badania aktywności enzymów komórek układu odpornościowego w układach *in vitro* i *in vivo*. Przedstawione osiągnięcia naukowo-badawcze Kandydatki w postaci jednotematycznego cyklu publikacji „Badania nad aktywnością proteaz sygnałowych układu odpornościowego za pomocą narzędzi chemicznych” dowodzą, że Habilitantka wypracowała w swojej działalności naukowej odrębną i spójną tematykę badawczą stanowiącą istotny, oryginalny i twórczy wkład w rozwój dyscypliny. Oceniam bardzo wysoko autoreferat oraz całościowy kształt dokonań naukowych Habilitantki i jestem głęboko przekonana, że jest ona w pełni przygotowana do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej. W moim głębokim przekonaniu uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa habilitacyjna spełnia wszystkie warunki określone w art. 219 ust. 1 Ustawy z dnia 20.07.2018 r. – *Ustawy o szkolnictwie wyższym i nauce* i wnioskuję o dopuszczenie dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.



