

UNIwersytet Gdański

Prof. dr hab. Jarosław Marszałek  
Pracownia Biochemii Ewolucyjnej  
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG/GUMed  
ul. Antoniego Abrahama 8, 80-307 Gdańsk  
tel. +48 58 523 6313  
tel./fax. +48 58 523 6427  
E-mail: jaroslaw.marszalek@biotech.ug.edu.pl

10.05.2019 r

## **Ocena osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku w związku z postępowaniem o nadanie Dr Pawłowi Leźnickiemu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**

**Ocena osiągnięcia naukowego:** Dr Paweł Leźnicki przedstawiła jako osiągnięcie naukowe będące podstawą do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego autoreferat oraz zbiór pięciu publikacji naukowych, który zatytułował: "Deubikwitynacja jako mechanizm kontroli funkcji retikulum endoplazmatycznego oraz degradacji niewłaściwie zlokalizowanych białek". Prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Dr Leźnicki jest pierwszym autorem wszystkich publikacji zaś w dwóch najnowszych pracach jest również autorem korespondującym. Jego wkład w powstanie tych publikacji został oceniony przez pozostałych autorów na 335%. Trzy prace ukazały się w czasopiśmie Journal of Cell Science, jedna w PLoS One oraz jedna w Proceedings of the National Academy of Sciences USA. Cztery publikacje to prace doświadczalne zaś jedna to praca przeglądowa. Zagadnienia omawiane we wszystkich publikacjach są zgodne z tytułem osiągnięcia naukowego. W skład osiągnięcia naukowego wchodzi również autoreferat (18 stron tekstu to jego część merytoryczna) w której habilitant omówił najważniejsze wyniki przedstawione w publikacjach oraz możliwości ich wykorzystania. W dalszej części oceny kolejno omawiam publikacje doświadczalne, prace przeglądową oraz autoreferat habilitanta.

**Publikacje doświadczalne:** Publikacje doświadczalne wchodzące w skład osiągnięcia naukowego są tematycznie spójne i zgodne z jego tytułem. W pierwszej pracy (PNAS 2012) dr Leźnicki opisał udział białka SGTA w procesie deubikwitynacji nieprawidłowo zlokalizowanych białek (MLP), które w komórce podlegają ubikwitynacji przez kompleks składający się z białka BAG6 oraz białek pomocniczych. Ubikwitynacja MLP prowadzi do ich degradacji, zaś deubikwitynacja przy udziale SGTA je stabilizuje. Autorzy sugerują, że nieprawidłowo zlokalizowane białka mogą podlegać wielu cyklom ubikwitynacji i deubikwitynacji z udziałem kompleksu BAG6 i białka SGTA zanim ich ostateczny los- degradacja lub stabilizacja- zostanie zdefiniowany. Tym samym zaproponowali, że cykl zależny od przeciwnych funkcji BAG6 i SGTA stanowi nowy mechanizm kontroli jakości białek w komórce. Badania przeprowadzono z zastosowaniem technik biochemicznych

stosując lizat retikulocytów oraz linie komórkowe. Jedynymi autorami publikacji są dr Leźnicki oraz jego szef prof. Stephen High, nie ma więc żadnych wątpliwości, że dr Leźnicki wykonał wszystkie doświadczenia opisane w publikacji. Jego wkład został oceniony na 90%.

W kolejnej pracy (PLoS One, 2013), badano fizyczne oddziaływanie pomiędzy białkami BAG6 i SGTA. Wykazano, że N-końcowa domena BAG6 (UBL- domain) jest odpowiedzialna za wiązanie SGTA. Wykazano również, że oddziaływanie to jest wysoce specyficzne i inne białka zawierające domeny UBL oraz C-końcowy region BAG6 nie wiążą SGTA. Pokazano także, że SGTA oddziałuje z białkiem UBL4a oraz, że to oddziaływanie uniemożliwia jego wiązanie do BAG6. Tym samym wykazano, że UBL4a i BAG6 konkurują o wiązanie SGTA. W oparciu o uzyskane wyniki zaproponowano hipotezę, że BAG6 i związane z nim białka pomocnicze stanowią centrum oddziaływania pomiędzy hydrofobowymi substratami białkowymi a białkami efektorowymi, jednym z nich jest SGTA. Oddziaływania te decydują o dalszych losach substratów białkowych w komórce; o ich degradacji lub stabilizacji. Dr Leźnicki jest pierwszym autorem tej publikacji a jego udział w jej przygotowaniu został oceniony na 60%.

Publikacja (J. Cell. Science 2015) opisuje oddziaływanie SGTA z białkiem Rpn13 będącym składnikiem proteasomu bezpośrednio odpowiedzialnym za wiązanie ubikwityny przyłączonej do białek substratowych. W pracy wykazano, że SGTA, poprzez domenę TRP, wiąże C-końcowy region białka Rpn13. Wykazano również, że nadprodukcja SGTA w komórce prowadzi do zwiększenia poziomu nieprawidłowo zlokalizowanych białek (MLP) sugerując, że bezpośrednie oddziaływanie SGTA-Rpn13 hamuje degradację MLP. Efekt ten jest niwelowany, po wprowadzeniu mutacji w obrębie domeny TRP białka SGTA hamujących jego oddziaływanie z Rpn13. Uzyskane wyniki są zgodne z modelem zaproponowanym w pierwszej publikacji wskazującym na kluczową rolę SGTA w regulacji proteolizy białek MLP. W tym przypadku pokazano nowy molekularny mechanizm odpowiedzialny za tą funkcję. Autorzy sugerują, że SGTA jest selektywnie rekrutowany do wiązania Rpn13 co umożliwia regulację procesu degradacji nieprawidłowo zlokalizowanych polipeptydów (MLP). W publikacji dr Leźnicki jest pierwszym autorem a jego udział w przygotowaniu pracy oceniono na 35%.

Publikacja (J. Cell. Science 2018) koncentruje się na identyfikacji białek o aktywności deubikwitynacji (DUB) w komórkach ssaków. Autorzy zidentyfikowali około 300 transkryptów, których sekwencja sugeruje, że mogą należeć do klasy enzymów o aktywności deubikwitynacyjnej DUB. Do dalszych badań, mających na celu pokazanie, że różne izoformy DUB mogą pełnić specyficzne funkcje wybrali słabo poznany DUB USP35. Szczegółowe badania USP35 wykazały, że w komórce występują dwie izoformy tego polipeptydu kodowane przez ten sam gen. Autorzy wykazali, że izoforma-1 jest czynnikiem anty-apoptotycznym zaś izoforma-2 jest białkiem błonowym zlokalizowanym w błonach retikulum-endoplazmatycznego (ER). Zmiany poziomu ekspresji izoformy-2 powodują stres ER, prawdopodobnie poprzez zaburzenie metabolizmu lipidów oraz prowadzą do śmierci komórki. Autorzy podkreślają, że uzyskane wyniki sugerują, iż obecność alternatywnych izoform białek DUB zwiększa ich repertuar funkcjonalny. Warto nadmienić, że J. Cell Science wybrał tą publikację do przeprowadzenia wywiadu z jej pierwszym autorem, czyli dr Leźnickim. W wywiadzie tym habilitant opowiedział o trudnościach, które napotkał w czasie realizacji badań, ale również przedstawił swoje plany na przyszłość. Wynika z nich, że rozważa zarówno karierę akademicką jak też możliwość pracy w przemyśle. Udział dr Leźnickiego w publikacji oceniono na 60%,

habilitant jest również ko-autorem korespondującym tej publikacji.

Praca przeglądowa (J. Cell Science 2017) wchodząca w skład osiągnięcia naukowego jest określona jako komentarz (Commentary) i stanowi jedną z serii publikacji dotyczących regulacji i funkcji procesu ubikwitynacji białek. Praca koncentruje się na białkach deubikwitynujących (DUB) tym samym jej treść jest zgodna z tematem osiągnięcia naukowego. W pracy kolejno omówiono regulację poziomu białek DUB w komórce oraz ich oddziaływanie z innymi białkami zaangażowanymi w proces ubikwitynacji/de-ubikwitynacji białek substratowych. Oddzielny rozdział poświęcono funkcjom białek DUB zależnym od ich lokalizacji komórkowej. Omówiono również znaczenie modyfikacji post-translacyjnych takich jak fosforylacja, ubikwitynacja, SUMOylacja i farnezylacja dla aktywności białek DUB. Zwrócono również uwagę na fakt, że pojedynczy gen kodujący białko DUB jest często źródłem alternatywnych izoform, które pełniąc różne role zwiększają funkcjonalną różnorodność tej klasy białek. W podsumowaniu podkreślono, że białka DUB nie tylko mają istotne znaczenie fizjologiczne, ale są również powiązane z patologiami człowieka. Tym samym poznanie molekularnych podstaw ich funkcjonowania może przyczynić się do rozwoju nowych strategii terapeutycznych. Praca ma dwóch autorów i udział dr Leźnickiego został określony na 90%- habilitant jest również autorem korespondującym tej publikacji.

**Mocne strony publikacji:** Wszystkie prace opublikowano w znanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Z prac tych jasno wynika, że dr Leźnicki jest specjalistą w dziedzinie proteostazy białek a w szczególności ekspertem w dziedzinie procesu ich deubikwitynacji. Wyniki opisane w tych publikacjach w istotny sposób poszerzyły wiedzę na temat molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za regulację procesu degradacji i stabilizacji białek komórkowych zarówno w warunkach fizjologicznych jak też w czasie stresu. W badaniach opisanych w tych pracach stosowano techniki biochemiczne i molekularne jak też metody biologii komórki. Nie ulega wątpliwości, że dr Leźnicki posiada doświadczenie w prowadzeniu tego typu badań. Wyniki opisane w publikacjach stanowią dobrą podstawę do prowadzenia dalszych prac, mających na celu poznanie molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za proteostazę białek. Stanowią również dobry punkt wyjścia do badań nad znaczeniem tych procesów w patologii człowieka.

**Słabe strony publikacji:** Pierwsza publikacja cyklu prac doświadczalnych ukazała się w prestiżowym PNAS, pozostałe w bardzo dobrych, ale nie tak prestiżowych czasopismach. Planując przyszłą samodzielną karierę akademicką habilitant powinien zastanowić się jaki rodzaj badań umożliwi mu publikację w czasopismach z najwyższej półki. To może mieć kluczowe znaczenie dla uzyskania finansowania własnej grupy badawczej.

#### **Autoreferat:**

W części merytorycznej autoreferatu habilitant omówił kolejno mechanizm i znaczenie procesu ubikwitynacji białek, proces ich degradacji z udziałem proteosomu oraz proces deubikwitynacji białek będący głównym tematem prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe. Przy czym zdaniem autora ten ostatni proces jest stosunkowo najslabiej poznany chociaż ma ogromne znaczenie dla proteostazy białek komórkowych. Autor wiele miejsca poświęcił procesowi importu białek do ER zarówno ko- jak też post-translacyjnemu. Wynika to z faktu, że 30% białek syntetyzowanych w cytosolu kierowanych jest do ER, jednak te które nie uzyskują prawidłowej struktury wracają do

cytoplazmy gdzie są degradowane. Tym samym białka ER są jednym z głównych źródeł nieprawidłowo zwiniętych białek obecnych w cytoplazmie. W procesie degradacji tych białek uczestniczy białko Bag6 oraz inne współpracujące czynniki białkowe, które były obiektem badań habilitanta. W dalszej części autoreferatu habilitant kolejno omawia najważniejsze wyniki opisane w poszczególnych publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Przedstawia zarówno motywy podjęcia badań jak też strategię badawczą zastosowaną w poszczególnych pracach. W każdym przypadku opis ten jest nie tylko dokładny, ale również ma charakter bardziej osobisty niż ten na jaki pozwala obowiązujący styl publikacji naukowych. Narracja podyktowana jest nie chronologią publikowanych prac, lecz problemami naukowymi, które motywowały habilitanta do podjęcia badań. Część merytoryczna kończy się podsumowaniem głównych osiągnięć naukowych wynikających z publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

W drugiej części autoreferatu habilitant skupił się na badaniach, które prowadził w okresie studiów oraz w czasie przygotowywania pracy doktorskiej. Od początku jego zainteresowania naukowe koncentrowały się na różnych aspektach proteostazy białek. W czasie studiów była to rola agregatów białkowych jako czynników toksyczności oraz aktywność dezagregaz należących do rodziny Hsp100. Na etapie przygotowania doktoratu badania habilitanta koncentrowały się na molekularnym mechanizmie integracji białek do błon ER. Modelem badawczym była grupa białek zakotwiczonych w błonie ER znanych jako białkami TA. Badania te pokazały udział białek opiekuńczych Hsp70/Hsp40 w inkorporacji białek TA do błon retikulum. Dalsze badania koncentrowały się na roli nowoodkrytego kompleksu TRC40 pełniącego kluczową rolę w inkorporacji białek TA do błon RE. W oparciu o wyniki tych badań Paweł Leźnicki uzyskał stopień doktora.

***Mocne strony autoreferatu:*** Autoreferat jest przemyślany i zredagowany bardzo starannie. Poszczególne publikacje omówione są na tyle szczegółowo, że na podstawie lektury autoreferatu można sobie wyrobić jasny pogląd na temat głównych wyników i odkryć przedstawionych w tych pracach. Jednocześnie nie jest to proste streszczenie publikacji a raczej refleksja nad tym w jaki sposób uzyskane wyniki inspirowały habilitanta do dalszych poszukiwań naukowych. Autoreferat jednoznacznie pokazuje, że jego autor jest dojrzałym badaczem i ekspertem w wybranej przez siebie dziedzinie badań.

***Słabe strony autoreferatu:*** W autoreferacie zabrakło podsumowania, które pozwoliłoby habilitantowi zaprezentować plany przyszłych badań. W jakim kierunku zamierza podążać? Domyślam się, że obiektem jego przyszłych badań będą słabo poznane białka DUB. Mógł napisać kilka słów na temat tego jak zamierza kontynuować i rozwijać to co dotychczas osiągnął? Obrady komisji oceniającej dorobek habilitanta byłyby ciekawsze.

**Podsumowanie:** Dorobek publikacyjny oraz Autoreferat przedstawiony jako osiągnięcie naukowe spełnia wymagania niezbędne do uzyskania stopnia naukowego Doktora Habilitowanego. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że dr Leźnicki jest pierwszym autorem wszystkich publikacji co nie pozostawia wątpliwości, że pełnił kluczową rolę w ich powstaniu nawet bez podania procentowych udziałów. O dojrzałości naukowej habilitanta świadczy również fakt, że w ostatnich publikacjach jest również autorem korespondującym.

## **Ocena pozostałego dorobku naukowego:**

Na pozostały dorobek publikacyjny składa się 8 prac opublikowanych w dobrych czasopiśmie naukowych o zasięgu międzynarodowym. W dwóch pracach dr Leźnicki jest pierwszym autorem. Wszystkie publikacje są ściśle związane z główną tematyką badań habilitanta i dotyczą kolejno: roli SGTA w kontroli jakości hydrofobowych substratów białkowych (J. Cell Sci 2014), struktury domeny dimeryzacyjnej SGTA (PLoS One 2014), roli TRC40 w imporcie białek do ER (J. Cell Sci 2012), mechanizmowi funkcjonowania dezagregazy Hsp100 (Cell Stress Chaperones, 2012), roli jonów wapnia w imporcie białek TA do błon ER (FEBS Lett. 2011), biogenezy białek TA (Biochem. J. 2011), roli Bat3 w integracji białek TA do błon ER (J. Cell Sci 2010), oraz udziału białek opiekuńczych w po-translacyjnej integracji białek TA do błon ER (J. Cell Sci 2007). Prace te zostały omówione w końcowej części autoreferatu habilitanta.

***Mocne strony dorobku publikacyjnego:*** Habilitant ma solidny dorobek publikacyjny. Łącznie publikacje były cytowane 294 razy a Indeks Hirscha według bazy Web of Science wynosi 10. To jest dobry wynik na tym etapie kariery naukowej. W pracach stosowano zróżnicowane podejście doświadczalne łączące techniki biochemii i biologii molekularnej z biologią komórki. Habilitant jest niewątpliwie ekspertem w dziedzinie proteostazy białek komórkowych ze szczególnym uwzględnieniem białek cytozolowych i transportowanych do ER.

***Słabe strony dorobku publikacyjnego:*** Jedynym słabszym punktem dorobku jest brak publikacji w najbardziej prestiżowych czasopiśmie. To powinno być następnym celem habilitanta.

**Podsumowanie:** Dorobek publikacyjny dr Leźnickiego spełnia warunki niezbędne do uzyskania stopnia Doktora Habilitowanego. Jego jednorodność tematyczna świadczy o tym, że habilitant jest specjalistą w dziedzinie proteostazy białek komórkowych. Nie mam wątpliwości, że prace opublikowane przez habilitanta istotnie poszerzyły wiedzę biologiczną.

## **Ocena osiągnięć dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki:**

Dr Leźnicki prowadził seminaria dla studentów drugiego roku biologii w macierzystej uczelni (Manchester, 2017-19). Oceniał plakaty przygotowane przez studentów trzeciego roku nauk bio-medycznych (Dundee, 2015), oraz asystował w prowadzeniu ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów biologii (Manchester, 2008). Dr Leźnicki sprawował również funkcję opiekuna naukowego pracy doktorskiej przygotowywanej przez Jayaprakasha Natarajana (2014-17). Jego doświadczenie dydaktyczne nie jest bardzo duże. Z drugiej strony funkcjonuje on w środowisku naukowym innym niż to, które znamy z Polski. Szkoda, że w dokumentacji nie podał więcej szczegółów na temat działalności dydaktycznej- czy prowadzone przez niego zajęcia dydaktyczne były obligatoryjnym wymogiem związane z jego stanowiskiem pracy czy też był wolontariuszem i tym samym wykroczył poza swoje obowiązki. To pomogłoby w ocenie jego podejścia do dydaktyki. Niezależnie od tych informacji pozytywnie oceniam doświadczenie dydaktyczne dr Leźnickiego.

Dr Leźnicki uczestniczył we współpracy naukowej pomiędzy MRC Protein Phosphorylation and Ubiquitylation Unit, University of Dundee, a Boehringer Ingelheim (Austria) w latach 2014-17. Tym samym ma doświadczenie w prowadzeniu takiej

współpracy. Odbił również dwa zagraniczne staże naukowe Texas A&M University (listopad 2009) oraz University of Kuopio, Finlandia (lipiec- wrzesień 2005).

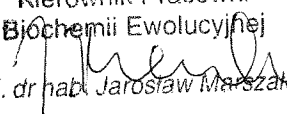
Na wczesnym etapie kariery jako student, samodzielnie przygotował i opublikował artykuł przeglądowy w czasopiśmie "Postępy Biochemii" ma więc doświadczenie w popularyzacji wiedzy naukowej. Podsumowując pozytywnie oceniam osiągnięcia dr Leźnickiego z zakresu dydaktyki, współpracy naukowej i popularyzacji nauki. Uważam, że są one wystarczające do uzyskania stopnia naukowego Doktora Habilitowanego.

### **Ocena pozyskiwania środków na badania naukowe:**

Dr Leźnicki był i jest wykonawcą projektów badawczych finansowanych przez Wellcome Trust. Od 2017 roku jest również kierownikiem projektu badawczego-nie przedstawił jednak informacji na temat wartości finansowej oraz czasu trwania tego projektu. Biorąc pod uwagę fakt, że sposób finansowania badań naukowych różni się pomiędzy krajami trudno jest oceniać zdolność dr Leźnickiego do pozyskiwania środków na badania naukowe. Jednak biorąc pod uwagę fakt, że ma on poważny dorobek publikacyjny, którego przygotowanie wymagało dobrego finansowania badań jestem pewny, że dr Leźnicki ma doświadczenie w prowadzeniu badań finansowanych ze źródeł zewnętrznych. To, że jest kierownikiem projektu badawczego wskazuje również na to, że ma doświadczenie w pozyskiwaniu funduszy na badania. Pozytywnie oceniam zdolność dr Leźnickiego do pozyskiwania środków na badania naukowe.

### **Wniosek końcowy:**

Po zapoznaniu się z osiągnięciem naukowym, dotychczasowym dorobkiem publikacyjnym oraz osiągnięciami związanymi z dydaktyką, współpracą naukową, działalnością związaną z popularyzacją nauki jak również z efektywnością pozyskiwania środków na własne prace badawcze uważam, że dr Paweł Leźnicki spełnia wszystkie wymagania niezbędne do uzyskania stopnia naukowego Doktora Habilitowanego. Niniejszym wnioskuję do Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o nadanie dr Pawłowi Leźnickiemu stopnia naukowego Doktora Habilitowanego w dziedzinie Nauk Ścisłych i Przyrodniczych w dyscyplinie Nauki Biologiczne.

Kierownik Pracowni  
Biochemii Ewolucyjnej  
  
prof. dr hab. Jarosław Marszałek