
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

31.05.2019 r

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

Ocena osiągnięcia naukowego: Dr Michał Szymański przedstawiła jako osiągnięcie naukowe będące podstawą do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zbiór czterech publikacji naukowych, który zatytułował: "Strukturalne podstawy replikacji i naprawy ludzkiego mitochondrialnego DNA" oraz autoreferat opisujący jego dotychczasową karierę i główne osiągnięcia naukowe. Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych. Dr Szymański jest pierwszym autorem dwóch publikacji (EMBO Journal oraz Nature Communications), drugim autorem o równym wkładzie (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) oraz współautorem (Antimicrobial Agents and Chemotherapy). Habilitant ocenił swój łączny wkład w powstanie tych publikacji na 200%, w tym publikacje, w których był pierwszym autorem po 70%, publikacja, w której był drugim autorem o równym udziale na 40% i współautorstwo na 20%. W dwóch publikacjach będących głównymi osiągnięciami tego cyklu wkład procentowy habilitanta jest najwyższy. Listy współautorów deklarujące ich udziały w poszczególnych publikacjach są zgodne z wkładami procentowymi zaproponowanymi przez habilitanta. W skład osiągnięcia naukowego wchodzi również autoreferat będący omówieniem całego dorobku publikacyjnego habilitanta. W dalszej części recenzji kolejno omawiam poszczególne publikacje oraz autoreferat.

Publikacje: Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego są tematycznie spójne i zgodne z jego tytułem. W pracy opublikowanej w EMBO J (2015) przedstawiono dwie nowe struktury krystalograficzne mitochondrialnej polimerazy DNA pol-gamma; jedna w kompleksie z DNA oraz substratem dCTP, druga w kompleksie z DNA i analogiem substratu ddCTP. Analog ten stosowany jest jako lek o nazwie Zalcitabine. Struktury te otrzymano dzięki zastosowaniu zaawansowanych technik molekularnych i biochemicznych na etapie przygotowania kompleksu do krystalizacji. Rozwiązano je

stosując zaawansowane techniki krystalograficzne. Otrzymane struktury umożliwiają przewidywania funkcjonalne związane z mechanizmem polimeryzacji DNA zarówno w warunkach fizjologicznych jak też w obecności inhibitora (ddCTP). Struktury te pozwalają na mechanistyczną interpretację roli pol-gamma w chorobach mitochondrialnych. Analiza otrzymanych struktur wykazała, że natywny substrat dCTP oraz jego analog ddCTP wiążą się do pol-gamma w bardzo podobny sposób. To tłumaczy, dlaczego ddCTP stosowany jako lek przeciw nowotworowy jest toksyczny dla ludzkich mitochondriów. Otrzymane struktury mogą w przyszłości pomóc w przygotowaniu inhibitorów mniej toksycznych dla mitochondrialnej pol-gamma. Fakt, że habilitant jest pierwszym autorem tej publikacji pokazuje, że jest on ekspertem w dziedzinie strukturalnej analizy złożonych kompleksów białkowo-nukleinowych.

Kolejna publikacja, w której habilitant jest drugim autorem o równym wkładzie, dotyczyła mechanizmu wiązania nukleozydowych analogów do mitochondrialnej polimerazy DNA pol-gamma. Analogi te, będące inhibitorami odwrotnej transkryptazy (RT), są powszechnie stosowane jako leki w terapii infekcji wirusem HIV. Od dawna wiadomo, że inhibitory te hamują aktywność pol-gamma co skutkuje zaburzeniem funkcjonowania mitochondriów. Dotychczas, nie było jednak wiadomo jaki jest molekularny mechanizm oddziaływania różnych wariantów strukturalnych tych inhibitorów z pol-gamma. Połączenie technik strukturalnych (krystalografia) i biochemicznych (inkorporacji pojedynczych nukleotydów w warunkach nierównowagowych) pozwoliło na poznanie strukturalnych podstaw specyficzności pol-gamma względem poszczególnych wariantów inhibitorów. Otrzymane wyniki dostarczyły strukturalnych podstaw do wyjaśnienia dotychczasowych obserwacji, że efekty toksyczne inhibitorów względem pol-gamma różnią się od siebie. Zidentyfikowano kluczowe reszty aminokwasowe odpowiedzialne za te różnice. Otrzymane wyniki mają znaczenie dla terapii antywirusowej, gdyż mogą pomóc w przygotowaniu nowych wersji inhibitorów RT wirusa HIV. Obserwacja, że w przypadku pol-gamma inne reszty aminokwasowe odpowiadają za wiązanie natywnego substratu a inne za wiązanie inhibitora otwiera drogę do przygotowania inhibitorów RT, których efekt toksyczny dla pol-gamma będzie mniejszy. Opublikowane wyniki badań opierały się na połączeniu technik strukturalnych i biochemicznych pokazując, że habilitant jest ekspertem w obu dziedzinach. Warto również podkreślić, że obie publikacje mają wyraźny aspekt medyczny.

Praca opublikowana w *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* kontynuuje cykl badań nad wpływem inhibitorów stosowanych w terapii wirusa HIV na ludzką mitochondrialną polimerazę DNA pol-gamma. Wykazano w niej, że mutacyjny wariant pol-gamma (R953C), występujący naturalnie w populacji ludzkiej i uwrażliwiający pacjentów na negatywne skutki podawania inhibitorów RT HIV posiada mniejsze powinowactwo do natywnego substratu dCTP. Pokazano to poprzez doświadczenia biochemiczne z zastosowaniem oczyszczonego wariantu pol-gamma. Do analizy wyników badań biochemicznych wykorzystano poprzednio opublikowaną strukturę pol-gamma, aby na jej podstawie modelować zmiany strukturalne wynikające z podstawienia R953C. Otrzymany model strukturalny sugeruje, że podstawienie w tej pozycji zaburza sieć oddziaływań krytycznych dla prawidłowej aktywności pol-gamma. Skutkuje to również obniżoną zdolnością do rozpoznawania inhibitorów RT HIV jako substratów do reakcji polimeryzacji DNA. Wybór tej pracy do zestawu stanowiącego osiągnięcie naukowe jest uzasadniony pomimo tego, że udział habilitanta w przygotowaniu tej publikacji nie był

bardzo wysoki (20%). Publikacja ta dobrze ilustruje zainteresowania naukowe habilitanta. Powiązanie rygorystycznych badań strukturalnych i funkcjonalnych z aplikacjami biomedycznymi. Podstawą strukturalnej interpretacji wyników opisanych w tej publikacji była struktura pol-gamma w kompleksie z DNA, którą wcześniej opublikował habilitant. Oceniana praca jest krótka, ale treściwa. W interesujący sposób łączy wyniki badań strukturalnych i biochemicznych z analizami genetycznymi i klinicznymi.

Ostania publikacja cyklu ukazała się w *Nature Communication* w 2017r. Habilitant jest jej pierwszym autorem. Dotyczy ona ludzkiej mitochondrialnej nukleazy hEXO_G, która uczestniczy w procesie naprawy mitochondrialnego DNA na drodze wycinania zasad (*ang. base excision repair BER*). W pracy przedstawiono wyniki strukturalnej i biochemicznej analizy dimeru hEXO_G, którego monomer składa się z domeny katalitycznej i domeny Wing. W pracy przedstawiono zarówno struktury apoenzymu jak też struktury enzymu w kompleksie z substratowym DNA. Otrzymane wyniki pokazały molekularne podstawy katalitycznej aktywności hEXO_G; zarówno jej specyficzność substratową jak też enzymatyczny mechanizm. Ponadto uzyskana struktura pozwoliła na rozwiązanie zagadki ewolucji hEXO_G. Według autorów publikacji niespecyficzna, powszechnie występująca, endonukleaza EndoG przekształciła się w wysoce specyficzną EXOG poprzez dodanie regulatorowej domeny Wing. Domena ta modyfikuje miejsce katalityczne hEXO_G w taki sposób, że wykazuje ono preferencję w kierunku dwuniciowego DNA. Ponadto domena Wing dostarcza reszty argininy bezpośrednio zaangażowanej w wiązanie substratu. Reszta ta modyfikuje właściwości katalityczne hEXO_G zwiększając wydajność katalizy i obniżając tempo uwalniania produktu reakcji. Wyniki uzyskane w tej pracy sugerują, że hEXO_G funkcjonuje w naprawie mtDNA wycinając 2-3 zasady. Tak przygotowany substrat jest optymalny dla mitochondrialnej polimerazy pol-gamma. Proponowany mechanizm jest specyficzny dla mitochondriów i różni się od typowego BER obserwowanego w jądrze komórkowym, gdzie naprawa poprzedzona jest powstaniem fragmentu jednoniciowego DNA z odsuniętą nicią komplementarną (*ang. strand displacement*). W pracy nie tylko pokazano nowe struktury hEXO_G ale również zaproponowano mechanizm udziału tej nukleazy w procesie naprawy mtDNA. To ważne osiągnięcie również w świetle innych prac z tego cyklu. Wiąże ono aktywności dwóch enzymów będących przedmiotem badań habilitanta; polimerazy pol-gamma i nukleazy hEXO_G. Praca ta wyznacza również kierunek jego dalszej kariery badawczej, która koncentruje się na procesach naprawy mtDNA.

Mocne strony publikacji: Trzy prace tego cyklu zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach naukowych. Wkład habilitanta w przygotowanie tych prac był największy. Wszystkie prace cyklu są spójne tematycznie i metodologicznie. Łączą analizę strukturalną z zastosowaniem metod krystalograficznych z zaawansowanymi doświadczeniami biochemicznymi. Wszystkie publikacje dotyczą powiązania przemian mtDNA z patologiami człowieka. Wyniki opublikowane w tych pracach są pomocne w wyjaśnianiu dwóch aspektów patologii mitochondrialnych. Wpływu mutacje mtDNA oraz mutacji enzymów biorących udział w jego przemianach na funkcjonowanie mitochondriów oraz toksycznego wpływu leków stosowanych w terapii przeciw nowotworowej i przeciw wirusowej na enzymy uczestniczące w przemianach mtDNA.

Słabe strony publikacji: Interesujące jest, że cytowalność prac stanowiących osiągnięcie naukowe habilitanta jest dosyć ograniczona. Nie mam wątpliwości, że są to publikacje wartościowe a przedstawione w nich wyniki strukturalne pozostaną na zawsze w depozytorium wiedzy biologicznej. Pokazuje to, że wyniki badań, nad procesami które czasie ich publikacji są w centrum zainteresowania ograniczonej liczby badaczy są słabiej cytowane. Często o tym zapominamy oceniając dorobek innych wyłącznie na podstawie parametrów bibliograficznych. W tym przypadku taka ocena nie ma sensu.

Autoreferat:

W części merytorycznej autoreferatu habilitant przedstawił krótkie wprowadzenie dotyczące roli mitochondriów, powielania ich genomu i patologii związanych z zaburzeniami tych procesów. Krótki wstęp zakończył podsumowaniem tego co łączy ze sobą publikacje przedstawione jako osiągnięcie naukowe. W dalszej części autoreferatu omówił poszczególne publikacje. W przypadku każdej z nich przedstawił pytania, które motywowały go do podjęcia badań oraz podkreślił problemy metodologiczne i interpretacyjne na które napotykał w czasie ich realizacji. Następnie wyjaśnił w jaki sposób problemy te zostały rozwiązane. W przypadku każdej omawianej publikacji wskazał również na znaczenie otrzymanych wyników nie tylko w kontekście poznawczym, ale również medycznym. Podkreślił również oryginalność opublikowanych wyników. Uważam, że opis kluczowych publikacji przedstawiony w autoreferacie pokazuje, że dr Szymański jest specjalistą w dziedzinie replikacji i naprawy mitochondrialnego DNA. Oraz, że dysponuje on warsztatem badawczym, zarówno strukturalnym jak też biochemicznym, który gwarantuje dalszą samodzielną karierę naukową. Habilitant pokazał również, że głównym motywem jego prac jest łączenie badań podstawowych z problemami medycznymi. A jednym z głównych celów jego badań jest otrzymywanie wyników, które pomogą w opracowaniu nowych terapii.

W kolejnej części autoreferatu habilitant omówił prace, które opublikował na wcześniejszych etapach swojej kariery. Podzielił je pod względem tematycznym, ale również chronologicznie, oddzielnie przedstawiając prace z okresu studiów doktoranckich i stażu po doktorskiego. W każdym przypadku omówił główne założenia i cele prowadzonych badań oraz najważniejsze wyniki, które na danym etapie opublikował. Ten fragment autoreferatu pokazuje, że habilitant ma bogate doświadczenie naukowe obejmujące różnorodne aspekty związane z metabolizmem i przemianami DNA. Zarówno u bakterii, wirusów jak też w mitochondriach komórek eukariotycznych.

Ostatni rozdział merytorycznej części autoreferatu opisuje bieżące prace badawcze i plany na przyszłość. Dr Szymański opisuje w nim badania finansowane z projektów, które uzyskał po powrocie do Polski. Badania te koncentrują się na enzymach uczestniczących w naprawie i replikacji mtDNA i są bliskie tematyce przedstawionej jako osiągnięcie naukowe habilitanta. Dr Szymański omawia również inne projekty badawcze, często dość odległe tematycznie, w które jest zaangażowany ze względu na współpracę z innymi badaczami głównie z USA. Zwornikiem tych różnorodnych tematycznie prac jest wspólna metodologia łącząca podejścia strukturalne i biochemiczne. Ostatni rozdział autoreferatu pokazuje, że dr Szymański jest dojrzałym badaczem, który łączy specjalistyczną wiedzę z zakresu biologii strukturalnej i biochemii z bardzo szerokimi zainteresowaniami naukowymi. To wszystko udokumentowane jest bardzo dobrym i bogatym dorobkiem publikacyjnym.

Mocne strony autoreferatu: Autoreferat jest dobrze napisany i starannie zredagowany. Poszczególne publikacje lub ich grupy omówione są w taki sposób, że na podstawie lektury autoreferatu można sobie wyrobić jasny pogląd na temat zakresu zainteresowań naukowych habilitanta. Można również dowiedzieć się jak rozwiązywał problemy, na które napotykał w czasie realizacji badań oraz jak uzyskiwane wyniki inspirowały go do dalszych poszukiwań naukowych. Autoreferat jednoznacznie pokazuje, że jego autor jest dojrzałym badaczem o szerokich zainteresowaniach naukowych i bardzo bogatym warsztacie.

Podsumowanie: Dorobek publikacyjny oraz Autoreferat przedstawiony jako osiągnięcie naukowe spełnia wymagania niezbędne do uzyskania stopnia naukowego Doktora Habilitowanego. Na szczególne podkreślenie zasługuje jakość naukowa publikacji przedstawionych jako osiągnięcie naukowe oraz bardzo interesujący opis kariery naukowej habilitanta zawarty w autoreferacie.

Ocena pozostałego dorobku naukowego:

Na pozostały dorobek publikacyjny habilitanta składa się 18 publikacji. W 9 z nich dr Szymański był pierwszym autorem: 3 w Biochemistry, 4 w Journal of Molecular Biology 2 w Journal of Biological Chemistry. Pozostałe publikacje ukazały się również w tych czasopismach. Opublikował je w latach od 2008 do 2013. To jest fantastyczny dorobek publikacyjny w bardzo dobrych czasopismach. Dr Szymański miał szczęście, że od początku swojej kariery naukowej współpracował z bardzo dobrymi badaczami. Jednak duża liczba prac z pierwszym autorstwem świadczy również o jego talencie i pracowitości na każdym etapie kariery naukowej. Tematyka tych prac obejmuje różne aspekty przemian DNA i uczestniczących w nich białek i enzymów. W pierwszym etapie kariery były to głównie badania biochemiczne z wykorzystaniem oczyszczonych białek, później badania strukturalne połączone z doświadczeniami biochemicznymi. Ten dorobek nie wymaga dalszych komentarzy. Dr Szymański w pełni zasłużył na stopień naukowy Doktora Habilitowanego.

Podsumowanie: Dorobek publikacyjny dr Szymańskiego spełnia wszystkie warunki niezbędne do uzyskania stopnia Doktora Habilitowanego. Jego różnorodność tematyczna pokazuje, że jest badaczem o szerokich horyzontach naukowych, który jednocześnie jest ekspertem w dziedzinie biochemii i struktury białek. Habilitant potrafi łączyć aspekty poznawcze i medyczne prowadzonych przez siebie badań. Dr Szymański ma jasno określony plan przyszłej kariery naukowej, który realizuje samodzielnie oraz we współpracy z innymi naukowcami. Nie mam wątpliwości, że prace opublikowane przez dr Szymańskiego istotnie poszerzyły wiedzę biologiczną.

Ocena osiągnięć dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki:

W dostarczonej dokumentacji znalazłem informacji na temat udziału habilitanta w prowadzeniu zajęć z Biochemii dla studentów University of Huston, jako asystent (2005) oraz dla studentów University of Texas Galveston jako wykładowca (2010). To zasługuje na uwagę, ponieważ dotychczasowa kariera habilitanta przebiegała głównie w USA (studia, doktorat, staż po doktorski), gdzie doktoranci oraz osoby na stażach po doktorskich nie mają obowiązku prowadzenia zajęć dydaktycznych zwłaszcza na dużych

uczelniah o charakterze badawczym. W wielu przypadkach kierownicy grantów nie zachęcają swoich podopiecznych do angażowania się w dydaktykę, ponieważ odrywa ich to od pracy badawczej. Chociaż zgodnie z polskimi standardami doświadczenie dydaktyczne dr Szymańskiego jest niewielkie warto podkreślić, że zdobył je w USA. Po powrocie do Polski dr Szymański zatrudniony jest na etacie badawczym finansowanym z projektów, których jest kierownikiem i dlatego nie prowadzi zajęć dydaktycznych. W dokumentacji przedstawił również przykłady swojego zaangażowania w popularyzację nauki oraz w opiekę nad doktorantami pracującymi razem z nim w laboratorium. Dotyczy to przede wszystkim doktorantów pracujących w jego zespole w Gdańsku.

Dr Szymański ma dobrze rozwiniętą sieć współprac naukowych obejmującą zarówno badaczy z zagranicy (Andrew Fire, Stanford; Bartosz Szczęsny oraz Wlodek Bujanowski, Univ. Texas Galvestone; Ted Hupp, University of Edinburgh) jak też z Polski (Danuta Gutowska-Owsiak z naszego wydziału oraz Jonathan Heddle, Małopolskie Centrum Biotechnologii). Projekty, które realizuje we współpracy z tymi naukowcami opisał w ostatniej części autoreferatu.

Z dokumentacji wynika również, że dr Szymański stara się angażować w popularyzację nauki. Udzielił wywiadu dla radia, utrzymuje kontakty z licealistami z Trójmiasta. Biorąc pod uwagę cechy jego osobowości jestem przekonany, że ten aspekt działalności dr Szymańskiego będzie się pomyślnie rozwijał.

Podsumowanie: Doświadczenie dydaktyczne i w popularyzacji nauki nie są najmocniejszymi stronami aplikacji dr Szymańskiego. Tłumaczy to jednak fakt, że jego dotychczasowa kariera naukowa przebiegała głównie w USA a od czasu powrotu do Polski jego etat na Uniwersytecie Gdańskim finansowany jest z grantów badawczych. Jednak moje kontakty z dr Szymańskim oraz rozmowy na tematy naukowe, które z nim prowadziłem nie pozostawiają wątpliwości, że jest on świetnym materiałem na nauczyciela akademickiego. Mocną stroną aplikacji jest zaangażowanie dr Szymańskiego w liczne i różnorodne współprace naukowe obejmujące zarówno badaczy z zagranicy jak też z kraju. Dr Szymański dał się poznać jako bardzo aktywny członek gdańskiego środowiska naukowego, który chętnie i aktywnie uczestniczy w wykładach i seminariach oraz który zaprasza swoich współpracowników do wygłaszania wykładów i seminariów w Gdańsku. Dorobek dydaktyczny, popularyzatorski oraz związany ze współpracą naukową dr Szymańskiego uważam za wystarczający do uzyskania stopnia Doktora Habilitowanego.

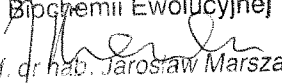
Ocena pozyskiwania środków na badania naukowe:

Po powrocie do Polski dr Szymański uzyskał finansowanie z NCN (944 874 PLN), FNP (2 000 000 PLN) oraz z EMBO (250 000 Euro) co nie pozostawia wątpliwości, że potrafi pozyskiwać fundusze na badania. Jego aplikacja do ERC jest na etapie wywiadu z aplikantem. Przed powrotem do Polski dr Szymański był wykonawcą wielu projektów badawczych kierowanych przez doświadczonych naukowców. Można powiedzieć, że zanim złożył własne aplikacje uczył się od najlepszych. Dotychczasowe sukcesy w pozyskiwaniu funduszy oraz ogromne doświadczenie w realizacji badań w ramach projektów nie pozostawiają wątpliwości, że umiejętność dr Szymańskiego w

pozyskiwaniu pieniędzy na badania jest równie imponująca jak jego dorobek publikacyjny. To zdecydowanie bardzo mocna strona jego aplikacji.

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 Michał Szymański bardzo dobrze 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 Michałowi Szymańskiemu stopnia naukowego Doktora Habilitowanego w dziedzinie Nauk Ścisłych i Przyrodniczych w dyscyplinie Nauki Biologiczne.

Kierownik Pracowni
Biokhemii Ewolucyjnej

prof. dr hab. Jarosław Marszałek

