



dr hab. inż. Marcin Sieńczyk
Zakład Chemii Medycznej i Mikrobiologii
ul. Smoluchowskiego 23, p.131
50-372 Wrocław
tel. +48 71 320 36 46
fax +48 71 320 24 27

Politechnika Wroclawska
Wydział Chemiczny
ul. Cypriana Kamila Norwida 4/6
50-373 Wrocław
tel. +48 71 320 24 25
fax +48 71 320 21 52

Wrocław, 5 grudnia 2018

O C E N A

**osiągnięcia naukowego i dorobku naukowo-dydaktycznego
stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego dr Pauliny Czaplewskiej
pt. *Mapowanie oddziaływań ludzkiej cystatyny C z biologicznie aktywnymi ligandami***

Wykonana na zlecenie Dziekana Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku – Prof. dr. hab. Igora Koniecznego z dnia 21 listopada 2018 roku.

Sylwetka naukowa Habilitantki

Pani dr Paulina Czaplewska (z d. Juszczyk) ukończyła studia magisterskie w 2001 roku (Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański) uzyskując tytuł zawodowy magistra chemii na podstawie wykonanej pod opieką dr hab. Aleksandry Kołodziejczyk pracy *Synteza chiralnych 1,2-damin o szkielecie aminokwasowym z wykorzystaniem reakcji Mitsunobu*. W 2001 roku rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, a w 2005 uzyskała stopień naukowy doktora nauk chemicznych na podstawie rozprawy doktorskiej *Synteza, badania konformacji i agregacji peptydów β -amyloidowych*, której promotorem był Prof. Zbigniew Grzonka.

Po uzyskaniu stopnia doktora Pani Paulina Czaplewska odbyła dwa staże podoktorskie: pierwszy (2005-2006) na Uniwersytecie Teksańskim w San Antonio, USA; drugi (2006-2007) na



Uniwersytecie w Konstancji, Niemcy. Po powrocie do kraju rozpoczęła pracę na etacie adiunkta w Katedrze Chemii Biomedycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. W 2013 roku odbyła trzyletni (krajowy) staż podoktorski jako specjalista w zakresie spektrometrii mas w ramach międzynarodowego projektu FP 7 REGPOT *MOBI4Health-Centre of Molecular Biotechnology for healthy life and environment* realizowanego w Zespole Laboratoriów Specjalistycznych Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Od 2016 roku zatrudniona jest na etacie adiunkta w Laboratorium Spektrometrii Mas Zespołu Laboratoriów Specjalistycznych Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Ocena osiągnięcia naukowego zgłoszonego jako podstawa postępowania habilitacyjnego

Przedstawione do oceny przez Panią dr Paulinę Czaplewską osiągnięcie naukowe, które stanowi podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia obejmuje cykl dziesięciu, spójnych tematycznie i logicznie publikacji naukowych opublikowanych w latach 2009-2018 zebranych pod wspólnym tytułem *Mapowanie oddziaływań ludzkiej cystatyny C z biologicznie aktywnymi ligandami*. Wszystkie z przedstawionych prac zostały opublikowane w czasopismach z tzw. listy *filadelfijskiej*, a ich sumaryczny współczynnik oddziaływania (*Impact Factor*) wynosi 31,77. Co ważne, prace Habilitantki zostały opublikowane w kilku uznanych czasopismach m.in. *Journal of Medicinal Chemistry* (IF: 4,9), *Amino Acids* (IF: 3,3) czy *Journal of Proteomics* (IF: 3,9).

W przypadku dziesięciu prac Habilitantka pełni funkcję autora korespondencyjnego, w jednej pracy jest pierwszym autorem co świadczy o jej dużym zaangażowaniu zarówno w planowanie części eksperymentalnej, prowadzeniu doświadczeń, analizie wyników, jak i przygotowaniu manuskryptów. Co więcej, przeważająca (9/10) część przeprowadzonych prac naukowo-badawczych, a tym samym publikacja uzyskanych wyników, możliwa była dzięki pozyskanemu przez Habilitantkę finansowaniu. Według szacunków zawartych przez Habilitantkę w autoreferacie, jej wkład w powstanie powyższych publikacji mieści się w zakresie od 30% (jedna praca), przez 35% (jedna praca) do 40% (osiem prac).



Do wniosku załączone zostały oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład w powstanie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Biorąc pod uwagę fakt, że są to prace wieloautorskie (co obecnie jest rutyną i niejako koniecznością w badaniach mieszczących się na pograniczu chemii i biologii), to podany udział Habilitantki w ich powstanie wydaje się być jednak nieco zawyżony. Przykładowo w pracy *J. Med. Chem.* (2009) widnieje siedmiu współautorów (warto podkreślić, że jest to praca o najwyższej wartości IF oraz o najwyższej liczbie cytowań wśród prac wchodzących w monotematyczny cykl będący podstawą postępowania habilitacyjnego), podobnie w pracy *Amino Acids* – dziesięciu współautorów czy w *J. Mol. Rec.* (2012) – dziewięciu współautorów. Po odjęciu wkładu własnego Habilitantki (40%), do podziału pomiędzy pozostałych autorów pozostaje 60%, co daje odpowiednio (przy równym podziale) 10%, 6,7% i 7,5% udziału na każdego ze współtwórców... Tym bardziej, że część z Nich wykonała zarówno prace doświadczalne, jak i brała udział w analizie wyników czy redakcji manuskryptu. W pełni rozumiem ogrom obowiązków i nakład pracy związanych z planowaniem badań eksperymentalnych, szczególnie będąc jednocześnie, jak w przypadku Habilitantki, kierownikiem projektu. Wiem także, że w miarę upływu czasu niezmiernie trudno jest racjonalnie i dokładnie oszacować udział poszczególnych osób w powstanie publikacji. Nie mniej jednak zawyżanie własnego udziału uważam za zupełnie zbędne, tym bardziej, że rozwój nauki, szczególnie w obszarach leżących na styku wielu dyscyplin, wymaga udziału specjalistów, o różnej, często z pozoru bardzo odległej specjalizacji. W takich sytuacjach udział ca 20-25% jest jak najbardziej w pełni wartościowy i ważny, a biorąc pod uwagę także rolę kierownika zarządzającego projektem naukowym, jak w przypadku Habilitantki, sama publikacja wyników w uznanych czasopismach dowodzi umiejętności pracy zespołowej, kierowania bardzo często młodymi adeptami nauki, wymaga jasnej, przejrzystej wizji i przysłowiowego zapięcia „na ostatni guzik” często wieloletnich prac badawczych.

Zakres tematyczny przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego – monotematycznego cyklu publikacji - jest merytorycznie i logicznie bardzo spójny. W swoich badaniach Habilitantka podjęła się wyzwania jakim była analiza wymagań strukturalnych ludzkiej cystatyny C istotnych dla jej oddziaływania z białkami czy peptydami o funkcji biologicznej, m.in. peptydem β -amyloidowym ($A\beta$) czy surowicznym białkiem amyloidowym A (SAA). Choć prowadzone badania stanowią po części



kontynuację i rozwinięcie zainteresowań Habilitantki z okresu realizacji swojej pracy doktorskiej, to potrafiła ona umiejętnie i zdecydowanie wyruszyć na nowe obszary nauki. Jako cel molekularny obrała istotną dla utrzymania homeostazy organizmu ludzką cystatynę C skupiając się na jej zdolności do wiązania biologicznie istotnych ligandów identyfikując kluczowe w interakcji białko/peptyd-białko/peptyd rejony. Podjęła się także bardzo ambitnego zadania jakim jest ustalenie roli cystatyny C w agregacji β -amyloidu, co być może zbliży nas do zrozumienia, wciąż jeszcze niejasnego, mechanizmu formowania złogów β -amyloidu i być może pozwoli na racjonalne zaprojektowanie nowych, potencjalnych leków użytecznych w terapii choroby Alzheimera.

Pierwszy obszar prac Habilitantki dotyczył określenia miejsc odpowiedzialnych za oddziaływanie ludzkiej cystatyny C z β -amyloidem. Autorka wykorzystwała w tym celu ciekawą technikę wycinania i ekstrakcji fragmentów peptydowych sprzężoną z analizą spektrometrii mas czy metodę nanoESI FTICR (do analizy interakcji między fragmentami). Przeprowadzone badania pozwoliły zidentyfikować rejon β -amyloidu obejmujący centralne pozycje 17-28, który zdolny jest do wiązania C-terminalnego fragmentu cystatyny (pozycje 101-117) w stosunku stechiometrycznym 1:1. Co więcej, Habilitantka wykazała zdolność hamowania agregacji β -amyloidu przez dwa peptydy odpowiadające C-końcowym fragmentom cystatyny (93-120 i 101-117). Uzyskane wyniki dają nadzieję na pracowanie potencjalnych terapeutyków będących inhibitorami procesu agregacji. Przyznam, że z ciekawością będę śledził dalsze dokonania Habilitantki w tym obszarze.

W kolejnym wątku Habilitantka podjęła się zadania identyfikacji obszaru cystatyny C, który zdolny jest do wiązania surowiczego białka amyloidu (SAA). W tym celu Habilitantka wykorzystwała metody chromatografii powinowactwa, spektrometrii mas czy sączenie molekularne. Podobnie jak dla β -amyloidu, miejsca wiążące SAA w ludzkiej cystatynie C zlokalizowane zostały w jej C-końcowym rejonie (pozycje 96-102). Molekularnym partnerem rejonu wiążącego cystatyny C był C-końcowy rejon SAA (pozycje 86-104). Autorka określiła także kluczowe dla wzajemnej interakcji pozycje aminokwasowe. Niestety nie udało się jednoznacznie potwierdzić antyagregacyjnych właściwości cystatyny C wobec SAA. Prawdopodobnie mechanizm ewentualnej inhibicji procesu agregacji przez cystatynę C jest bardziej skomplikowany i może angażować dodatkowe elementy strukturalne.



Na podstawie otrzymanych wyników można jednak wysnuć przypuszczenie, że C-końcowy rejon ludzkiej cystatyny C może pełnić istotną rolę w jej prawdopodobnie dualnej funkcji biologicznej.

Trzeci, w mojej ocenie najciekawszy obszar prowadzonych przez Habilitantkę prac naukowo-badawczych obejmował określenie, które rejony w strukturze cystatyny C odpowiadają za jej rozpoznanie przez przeciwciała. W tym celu Autorka użyła zarówno handlowo dostępnych przeciwciał monoklonalnych, jak i przeciwciała otrzymanego w ramach prowadzonej współpracy naukowej (Prof. Anders Grubba, Uniwersytet w Lund, Szwecja), o określonej już zdolności hamowania przez nie procesu dimeryzacji cystatyny C. Wykorzystując przytoczoną już powyżej metodologię eksperymentalną, a także technikę wymiany proton/deuter sprzężonej ze spektrometrią mas udało się zidentyfikować rejony ludzkiej cystatyny C wiążące się z paratopami badanych przeciwciał. Co więcej, dla kilku z określonych fragmentów uzyskano wysoką korelację wyników dla obu zastosowanych metod. Choć przedstawione wyniki zostały już opublikowane w trzech artykułach naukowych, jest to dopiero początek dalszej, mam nadzieję rozwijanej w przyszłości, aktywności naukowej Habilitantki. Szczególnie wartościowe są wyniki uzyskane przez Autorkę podczas analizy oddziaływania ludzkich poliklonalnych autoprzeciwciał z cystatyną C. Jest to pierwszy dowód na istnienie naturalnie występujących przeciwciał skierowanych przeciwko cystatynie C. Autorka określiła fragmenty cystatyny C o potencjalnie autoimmunizacyjnym. Osiągnięcie to jest szczególnie ważne w świetle intensywnie rozwijającej się i pogłębiającej wiedzy w zakresie chorób o podłożu autoimmunizacyjnym oraz możliwości opracowania szybkiej strategii diagnostycznej.

Autoreferat został przygotowany dość starannie i czytelnie, choć Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów edytorskich i językowych (czego niestety nie można „powiedzieć” o angielskiej wersji złożonych dokumentów, które przygotowano dość niedbale, zarówno pod względem językowym, jak i edytorskim, np. pozostawiono fragmenty w języku polskim). Wydaje mi się, że wartościowym byłoby zamieszczenie w formie graficznej wyników uzyskanych w trakcie realizacji poszczególnych „etapów”. Przykładowo podrozdział *Ludzka cystatyna C i peptyd beta amyloidowy (βA)* mógł jako podsumowanie zawierać modele strukturalne obrazujące wzajemne oddziaływanie obu molekuł (pomimo tego, iż są zawarte w odpowiednich, załączonych do wniosku publikacjach), szczególnie zestawienie różnych modeli obok siebie. Ponadto poszczególne podrozdziały (*Syntetyczne omówienie wyników*) w mojej



ocenie zawierają zbyt dużo technicznych aspektów przeprowadzonych eksperymentów – w tym miejscu wskazane byłoby raczej skupienie się na opisie podjętego problemu, przesłanek stojących za wyborem określonej strategii czy zdecydowanie głębszej niż to przedstawiono analizie uzyskanych wyników. Nie mniej jednak Habilitantka zawarła w opisie wszystkie kluczowe dla pozytywnej oceny osiągnięcia opisy wykonanych badań.

Chcąc podsumować ten fragment chciałbym podkreślić, iż prace naukowe Habilitantki ujęte jako osiągnięcie naukowe stanowią interesujący i istotny wkład w rozwój badanej dziedziny nauki. Warto także zwrócić uwagę na bogaty warsztat badawczy Habilitantki. Biegle posługuje się różnymi zaawansowanymi technikami analitycznymi jak spektrometria mas połączona z ekstrakcją i wycinaniem fragmentów peptydowych; spektroskopia NMR czy spektroskopia dichroizmu kołowego, a także metodami immunochemicznymi czy metodami modelowania molekularnego. Świadczy to doskonałym przygotowaniu do dalszego rozwoju kariery naukowej.

Ocena aktywności naukowej i dorobku naukowego

Całkowity dorobek naukowy Pani dr Pauliny Czaplewskiej obejmuje 30 publikacji (włączając 10 prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego), z czego siedem ukazało się przed uzyskaniem stopnia doktora (o łącznym IF: 17,9), jedna weszła w skład rozprawy doktorskiej (IF: 1,0) oraz dwanaście prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora, które nie stanowią części cyklu publikacji do habilitacji (IF: 35,75). Tematyka tych prac jest zbliżona do prac wchodzących w skład dorobku habilitacyjnego i oscyluje wokół zagadnień związanych z procesem agregacji biomolekuł. Zakres wartości współczynnika oddziaływania opublikowanych prac (z wyłączeniem prac będących podstawą postępowania habilitacyjnego) jest dość szeroki – obejmuje zarówno prace opublikowane w uznanych czasopismach (IF: 5,5; 4,7 czy 4,3), jak i w czasopismach bardzo przeciętnych (IF: 0,2 czy 1,0). Jedyne na co pragnąłbym zwrócić uwagę to fakt, że w przeważającej większości (może z wyłączeniem prac o skrajnie niskim IF) udział Habilitantki jest marginalny i rzadko przekracza 5% czy 10%. Rodzi to pytanie o źródło tej dysproporcji i swoistego



dysonansu związanego z nieco zawyżonym przez Habilitantkę własnego udziału w pracach ujętych w postępowaniu habilitacyjnym, o czym wspominałem powyżej.

Sumaryczny IF wszystkich prac Habilitantki wynosi 86,44 co należy uznać za wynik dobry na tym etapie rozwoju kariery naukowej. Prace Autorki zostały już także zauważone przez innych badaczy o czym świadczy całkowita liczba cytowań 365 oraz indeks Hirsha 11. Wyniki badań Habilitantki były też prezentowane na licznych konferencjach naukowych (51 doniesień), jednak tylko 6 (!) z nich to doniesienia ustne, co uważam za dość przeciętne osiągnięcie. Zastanawiający jest także bardzo niska ilość zgłoszeń patentowych Autorki (jedno zgłoszenie europejskie), szczególnie w aspekcie dużego potencjału wdrożeniowego prowadzonych badań.

Habilitantka w swojej karierze pełniła rolę recenzenta projektu naukowego (1) oraz recenzenta publikacji w czasopiśmie naukowych (11), co wydaje się zaskakująco małą ilością biorąc pod uwagę jej dotychczasowe osiągnięcia, dorobek publikacyjny oraz staż pracy naukowej.

Niezwykle ważnym aspektem pracy naukowo-badawczej jest umiejętność pozyskiwania funduszy, bez których trudno wyobrazić sobie dzisiaj prowadzenie zaawansowanych i kosztownych prac. Habilitantka w trakcie swojej kariery dwukrotnie pełniła rolę kierownika grantów finansowanych ze źródeł zewnętrznych (MNiSzW, 2009-2012; NCN, 2013-2016). W kilku innych grantach pełniła rolę wykonawcy. Działalność naukowa dr Pauliny Czaplewskiej była wielokrotnie nagradzana, m.in. Stypendium Fundacji Rozwoju Uniwersytetu Gdańskiego (2003), Nagrodą Zespołową Ministra Edukacji Narodowej (2005) czy Nagrodą Rektora Uniwersytetu Gdańskiego (2010).

Reasumując, dorobek naukowy Habilitantki stanowi interesującą lekturę. Widać w nim także wzrastającą nie tylko ilość, ale także jakość publikowanych prac. Jestem przekonany, iż aktualne miejsce prowadzenia badań, a tym samym dostęp do zaawansowanych technik i aparatury badawczej wraz z ambitnymi planami rozwoju kariery Habilitantki zaowocują w niedalekiej przyszłości wyraźnym przyrostem dorobku naukowego.



Działalność organizacyjna i dydaktyczna Habilitantki

Pani dr Paulina Czaplewska od 2010 roku jest Członkiem Polskiego Towarzystwa Spektrometrii Mas PTMS. Swoją karierę naukową w Polsce związała z ośrodkami Gdańskimi – najpierw z Wydziałem Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, obecnie z Międzyuczelnianym Wydziałem Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Dotychczas była promotorem 8 prac magisterskich i 13 prac licencjackich. Aktualnie pełni także funkcję promotora pomocniczego w trzech przewodach doktorskich. Ponadto aktywnie uczestniczy w procesie nauczania przygotowując materiały do zajęć, organizując warsztaty szkoleniowe czy popularyzacji nauki w ramach m.in. Bałtyckiego Festiwalu Nauki czy Dnia Otwartego na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, co jest godne pochwały, szczególnie w świetle natłoku obowiązków wynikających z zatrudnienia na uczelni wyższej (prowadzenie badań naukowych czy uczestnictwo w procesie dydaktycznym studentów).

Habilitantka nie zapomina też o swoim osobistym rozwoju uczestnicząc w licznych szkoleniach i warsztatach m.in. z zakresu wymagań stawianych laboratoriom badawczym, zastosowania spektrometrii mas czy metod stosowanych w badaniach proteomicznych. Ustawiczne kształcenie jest bardzo ważnym elementem rozwoju, tym bardziej że Habilitantka pełni ważną rolę w efektywnym funkcjonowaniu laboratorium, w którym pracuje.

Wniosek końcowy

Po przeprowadzeniu analizy i oceny osiągnięcia naukowego, aktywności naukowej i dorobku naukowego oraz działalności organizacyjnej i dydaktycznej Pani dr Pauliny Czaplewskiej mogą stwierdzić, iż są to osiągnięcia istotne z punktu widzenia rozwoju dyscypliny naukowej. Habilitantka spełnia wymagania zarówno zwyczajowe, jak i określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku (wraz z późniejszymi zmianami; Dz. U. z 2017 poz. 1789) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego



z dnia 1 września 2011 roku (Dz. U. z 2011 nr 196 poz. 1165) w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, co w pełni uzasadnia nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia.

Dr hab. inż. Marcin Sieńczyk