

Poznań, 24.02.2024

Prof. dr hab. Hanna Kmita
kmita@amu.edu.pl

Opinia w postępowaniu w sprawie nadania dr Boguszowi Kulawiakowi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych dyscyplinie nauki biologiczne

Podstawowe dane dotyczące przebiegu pracy naukowej habilitanta:

Pan dr Bogusz Kulawiak otrzymał stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii-biochemii w roku 2009 w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk (PAN) w Warszawie. Pracę doktorską pt. „Oddziaływanie ligandów kanału potasowego regulowanego przez jony wapniowe z komórkami nerwowymi” wykonał pod kierunkiem prof. dr hab. Adama Szewczyka, kierownika Pracowni Wewnątrzkomórkowych Kanałów Jonowych w tymże Instytucie. Po uzyskaniu stopnia doktora habilitant został zatrudniony w tejże pracowni, początkowo jako biolog (10.2009-05.2010), następnie jako specjalista (09.2014-06.2016) i obecnie jako adiunkt (od 07.2016). W tym czasie odbył dwa staże podoktorskie: czteroletni (06.2010–06.2014) w zespole prof. Nikolausa Pfannera (Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet we Fryburgu Bryzgowijskim, Niemcy) i miesięczny (rok 2016) w zespole prof. Mike Ryana (Monash University, Melbourne, Australia). Warto także podkreślić, że jeszcze przed otrzymaniem stopnia doktora habilitant odbył trzy staże naukowe (3-4 miesięczne) w zespole prof. Wolframa Kunza (Laboratorium Neurochemii, Uniwersytet w Bonn, Niemcy).

Ocena osiągnięć naukowych:

Po uzyskaniu stopnia doktora habilitant opublikował 27 prac w czasopiśmie z listy JCR. Wśród nich znajduje się cykl powiązanych tematycznie prac naukowych (7 prac) oraz tematycznie spójna grupa 4 prac naukowych powstałych w wyniku stażu podoktorskiego w zespole prof. Nikolausa Pfannera. Wymienione prace naukowe uznają za podstawę oceny osiągnięć naukowych habilitanta.

Cykl powiązanych tematycznie prac naukowych, zatytułowany *Mitochondrialne kanały potasowe: regulacja i funkcja*, obejmuje 4 prace eksperymentalne i 3 prace przeglądowe, opublikowane w latach 2019-2023. Udział habilitanta w ich powstaniu jest jasno określony i znajduje potwierdzenie w oświadczeniach współautorów. Co warto podkreślić, we wszystkich tych pracach

ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, 61-614 Poznań
tel. +48 61 829 5553biologia.amu.edu.pl ibmib.amu.edu.pl

habilitant jest autorem korespondencyjnym i zajmuje główną pozycję na liście współautorów (pierwsza lub ostatnia, z wyjątkiem jednej pracy eksperymentalnej, w której pierwsza pozycja jest dzielona ze względu na równy udział). W przypadku prac eksperymentalnych habilitant jest autorem koncepcji badań (2 prace) lub współautorem koncepcji badań (2 prace), a w przypadku prac przeglądowych habilitant jest współautorem koncepcji tych prac. Dane te wskazują na główną rolę habilitanta w powstaniu cyklu powiązanych tematycznie prac. Cykl ten dotyczy głównie dwóch mitochondrialnych kanałów potasowych; tj. mitochondrialnego kanału regulowanego przez ATP (mitoK_{ATP}) i mitochondrialnego kanału potasowego o dużym przewodnictwie aktywowanego jonami wapnia (mitoBK_{Ca}).

Mitochondrialne kanały potasowe zidentyfikowano u zwierząt, ale także u roślin i organizmów jednokomórkowych. W przypadku zwierząt stwierdzono tkankowo specyficzną ekspresję poszczególnych typów mitochondrialnych kanałów potasowych, jednakże leżące u jej podłoża mechanizmy nadal wymagają wyjaśnienia. Należy jednak zauważyć, że mechanizmy te stanowią istotny element cytoprotekcyjnego działania tych kanałów. Ponadto kluczowe znaczenie ma także wyjaśnienie budowy i regulacji tych kanałów w obrębie mitochondriów i komórek. W związku z tym, omawiany cykl w swej części eksperymentalnej (prace **H1-H4**) dotyczy tych aspektów w przypadku mitochondrialnych kanałów potasowych mitoK_{ATP} i mitoBK_{Ca} z komórek ssaków. Natomiast część przeglądowa (prace **H5-H7**) to podsumowanie aktualnego stanu wiedzy dotyczącej budowy, funkcji i regulacji mitochondrialnych kanałów potasowych oraz ich roli w kardioprotekcji, jak i też wskazanie, na podstawie dostępnych danych, zagadnień, których wyjaśnienie powinno doprowadzić do pełnego zrozumienia funkcjonalnego znaczenia mitochondrialnych kanałów potasowych.

Cykl rozpoczyna praca **H1** poświęcona weryfikacji hipotezy zakładającej, że za aktywność kanałową o cechach kanału mitoK_{ATP} w mitochondriach komórek serca może być odpowiedzialna izoforma 2 kanału typu ROMK (ang. *renal outer medullary potassium channel*, Kir1.1). W badaniach wykorzystano linię komórkową H9c2 typu dzikiego i z trwałą nadekspresją ludzkiego białka ROMK2. Stwierdzono, że w wewnętrznej błonie mitochondrialnej komórek H9c2 występuje kanał mitoK_{ATP}, w którego funkcjonowaniu uczestniczy białko ROMK2. Jednakże, w oparciu o dostępne dane, w dyskusji wyników zauważono także, że za tę aktywność kanałową mogą odpowiadać inne białka.

Praca **H2** poświęcona jest weryfikacji hipotezy zakładającej, że wariant splicingowy VEDEC produktu genu *KCNMA1*, kodującego podjednostkę kanałową kanału BK_{Ca} zlokalizowanego w błonie komórkowej (podjednostka α), może być importowany do wewnętrznej błony mitochondrialnej i tworzyć w niej funkcjonalny kanał o właściwościach kanału mitoBK_{Ca}. W wyniku zastosowania przejściowej ekspresji wariantu VEDEC w komórkach HEK293T stwierdzono, że wariant VEDEC tworzy funkcjonalny kanał o charakterystyce kanału mitoBK_{Ca}. Jednakże zwrócono także uwagę na lokalizację tego wariantu poza mitochondriami i możliwość udziału innych białek w tej aktywności kanałowej.

Praca **H3** dotyczy roli tlenku węgla (CO) w regulacji kanału mitoBK_{Ca} w komórkach glioblastomy U-87 MG. Ponieważ stwierdzono niespecyficzny efekt związków uwalniających CO (związki CORM), w badaniach wykorzystano gazowy CO. Wykazano, że CO aktywuje kanał mitoBK_{Ca} w wyniku oddziaływania z cząsteczką hemu związaną z kanałem, podobnie jak ma to miejsce w przypadku kanału BK_{Ca} z błony komórkowej. Jest to istotne ustalenie z punktu widzenia możliwego udziału kanału mitoBK_{Ca} w mechanizmach cytoprotekcyjnych. Wątek ten kontynuowano w pracy **H4** dotyczącej konsekwencji braku obecności tego kanału w komórkach U-87 MG.

W pracy **H4** wykazano, że podjednostka α kanału mitoBK_{Ca} w komórkach U-87 MG kodowana jest przez gen *KCNMA1*. Jej wyeliminowanie (w wyniku zastosowania CRISPR/Cas9) prowadzi do zwiększenia poziomu ROS w mitochondriach, co zapewne wynika z braku oddziaływania między

kanałem mitoBK_{Ca} a kompleksami łańcucha oddechowego, które prawdopodobnie jest przejściowa lub nie jest bezpośrednie. W związku z tym, kanał mitoBK_{Ca} można uznać za możliwy cel terapii przeciwnowotworowej, co jednak wymaga dalszych badań.

W powyżej omówionych pracach zastosowano szeroki wachlarz metod, od standardowych technik biologii molekularnej i komórki, po nowoczesne metody mikroskopii i analizę elektrofizjologiczną. Omawiane badania stanowią logiczną kontynuację badań prowadzonych w Pracowni Wewnątrzkomórkowych Kanałów Jonowych, w których także uczestniczył habilitant. Co warte podkreślenia, istotną rolę w powstaniu tych prac odegrała realizacja grantu NCN Sonata Bis-5, którego kierownikiem był habilitant. Najważniejsze wnioski oparte na wynikach prac **H1-H4** są następujące : (i) skład podjednostkowy mitochondrialnych kanałów potasowych jest zależny od typu komórki; (ii) istnieją złożone mechanizmy regulacji aktywności mitochondrialnych kanałów potasowych, co sprawia, że mogą one stanowić miejsce uchwytu farmakologicznego nowych terapii cytoprotekcyjnych i przeciwnowotworowych.

Prace **H5-H7** to prace przeglądowe dotyczące: (i) szlaków sygnałowych związanych z regulacją mitochondrialnych kanałów potasowych (praca **H5**), (ii) kanałów potasowych w mitochondriach serca i ich roli funkcjonalnej, z uwzględnieniem kardioprotekcji (praca **H6**) i (iii) aktualnie istniejących wyzwań w badaniach mitochondrialnych kanałów potasowych, zarówno w zakresie rozwiązań metodycznych, jak i dostępnych danych. Prace te stanowią spójne uzupełnienie prac **H1-H4**, dzięki czemu przedstawiony cykl stanowi istotny wkład w wyjaśnienie roli mitochondrialnych kanałów jonowych w funkcjonowaniu komórek. Zatem, cykl ten mieści się w zakresie dyscypliny nauki biologiczne.

Kolejne osiągnięcie naukowe habilitanta to tematycznie spójna grupa 4 prac naukowych powstałych w wyniku stażu podoktorskiego w zespole prof. Nikolausa Pfannera. Warto podkreślić, że Prof. Nikolaus Pfanner to światowej sławy naukowiec zajmujący się biogenezą mitochondriów, a staż ten był możliwy dzięki stypendium Humboldt Research Fellowship for Postdoctoral Researchers (24 miesiące). Do wspomnianej grupy prac należą trzy prace eksperymentalne i jedna praca przeglądowa której pierwszym autorem jest habilitant. Dwie prace eksperymentalne (Gebert i in., 2011 oraz Böttinger i in., 2013) i praca przeglądowa (Kulawiak i in., 2013) powstały w trakcie trwania stażu podoktorskiego. Dotyczą one związków funkcjonalnych między aparatem importu białka i kompleksami łańcucha oddechowego w mitochondriach modelowego organizmu eukariotycznego, którym są drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Ostatnia praca eksperymentalna została opublikowana w zeszłym roku (2023) w *Nature*. Przedstawia ona ilościowe mapowanie oddziaływań białek proteomu mitochondrialnego drożdży przy zastosowaniu profilowania o wysokiej rozdzielczości. Podejście to pozwoliło na wskazanie opartych na kontroli importu białka do mitochondriów mechanizmów kontroli jakości mitochondriów, w których uczestniczą kompleks TOM i oddziałujące z nim białka. Zastosowane podejście, jak i sformułowane ustalenia mają kluczowe znaczenie dla pełnego opisu funkcjonowania mitochondriów, w tym człowieka, co może się przełożyć na wyjaśnienie etiologii szeregu chorób. Omawiane prace wskazują na to, że habilitant jest także zainteresowany badaniem innych, poza kanałami potasowymi, aspektami funkcjonowania mitochondriów, w tym złożoną siecią oddziaływań białek mitochondrialnych obejmujących również kanały potasowe, a zainteresowanie to przekłada się na skuteczną współpracę z najlepszymi ośrodkami naukowymi na świecie

Podsumowując uznaję, że przedstawione do oceny osiągnięcia naukowe dr Bogusza Kulawiaka stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne i powinny być podstawą awansu naukowego.

Ocena aktywności naukowej:

Zgodnie z obowiązującą ustawą, aktywność naukowa musi być realizowana w co najmniej dwóch uczelniach, instytucjach naukowych lub instytucjach kultury. Zatem, powinna być ona także „realizowana w innych określonych podmiotach, nie zaś w podmiocie, w którym zatrudniona jest osoba ubiegająca się o nadanie stopnia doktora habilitowanego”. W dorobku naukowym habilitanta, poza wymaganym ustawą cyklem powiązanych tematycznie 7 publikacji powstałych w wyniku zatrudnienia w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie, znajdują się 4 spójne tematycznie prace powstałe w wyniku jego stażu podoktorskiego Instytucie Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytetu we Fryburgu Bryzgowijskim. Ponadto, w latach 2005-2008 habilitant odbył trzy kilkumiesięczne staże w Laboratorium Neurochemii Uniwersytetu w Bonn (grupa prof. Wolframa Kunza), których tematyka pozostaje w związku z kilkoma pracami w jego pozostałym dorobku.

Habilitant recenzuje prace naukowe w czasopismach z listy JCR oraz był redaktorem zeszytu tematycznego "Compounds Modulating Mitochondrial Ion Channels" czasopisma *Molecules*. Obecnie jest redaktorem we *Frontiers in Physiology*. Po uzyskaniu stopnia doktora habilitant był współautorem 5 doniesień konferencyjnych, w których jest pierwszym autorem i prezentowanych w postaci posteru oraz wygłosił 7 wykładów na międzynarodowych konferencjach. W czasie stażu podoktorskiego wygłosił także kilka seminariów naukowych. Do tej pory habilitant był kierownikiem grantu NCN Sonata Bis i uczestniczył w realizacji grantu NCN Opus, a obecnie uczestniczy w realizacji dwóch innych grantów NCN (Opus i Maestro). Habilitant był członkiem panelu eksperckiego NCN oraz recenzował projekt dla Czech Science Foundation. Brał także udział w grantie polsko-niemieckim Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Uszkodzenie neuronów w epilepsji - funkcjonalna rola mitochondriów” (P-N/031/2006) oraz grantie NCBiR „Od mitochondriów do innowacyjnych kosmetyków o działaniu protekcyjnym” (MERIS PBS1/B8/1/2012). Habilitant jest również członkiem Zarządu oddziału Warszawskiego Polskiego Towarzystwa Biochemicznego i uczestniczył w organizacji trzech konferencji z serii Mitochondrion.

Habilitant aktywnie uczestniczył w wydarzeniach związanych z popularyzacją nauki, w tym był współprowadzącym warsztaty dla dzieci i młodzieży w ramach Tygodnia Mózgu i organizowanych przez Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie, współprowadził zajęcia dotyczące fluorescencji dla stypendystów Krajowego Funduszu na Rzecz Dzieci i brał udział w 5 projekcie Art & Science „Sztuka Apoptozy – Art of Apoptosis”, tj. przedstawił prezentację popularnonaukową pt. „Energetyka śmierci komórkowej” i przygotował artykuł popularnonaukowy „Energetics of cell death - participation of mitochondria in apoptosis” do katalogu wystawy towarzyszącej temu projektowi. Od marca 2023 habilitant jest członkiem Zarządu (sekretarzem) Fundacji Marcelego Nenckiego Wspierania Nauk Biologicznych, której zadaniem jest popularyzacja nauki, między innymi wśród dzieci i młodzieży.


Wymienione aspekty aktywności naukowej habilitanta spełniają kryterium ustawowe i zasługują na pozytywną ocenę.

Należy także docenić aktywność dydaktyczną habilitanta. W czasie stażu podoktorskiego na Uniwersytecie we Fryburgu Bryzgowijskim (Niemcy) współprowadził zajęcia w ramach przedmiotu „On molecular motors and power plants” dla kierunku Molecular Medicine. Prowadził także wykłady kursowe dla uczestników studiów doktoranckich TRI-BIO-CHEM w ramach cyklu Postępy biochemii (semestr letni 2019/20) oraz wykłady tematyczne dla doktorantów Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie i Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN w Warszawie oraz studentów Wydziału Biologii UAM. Habilitant był promotorem pomocniczym 2 obronionych prac doktorskich oraz promotorem lub współpromotorem 2 prac magisterskich. Obecnie

jest promotorem pomocniczym jednej pracy doktorskiej, realizowanej w ramach kierowanego przez niego grantu Sonata Bis-5.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcia naukowe i aktywność naukowa dr Bogusza Kulawiaka spełniają wymogi określone w art. 219 ust. 1 pkt 1-3 i ust. 2, z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. póź. 574, z późn. zm.). W związku z tym, z pełnym przekonaniem popieram wniosek o nadanie dr Boguszwowi Kulawiakowi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



Hanna Kmita