Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Kraków, 18 XI 2026 r.

Prof. dr hab. Marta Dziedzicka-Wasylewska
Zakład Farmakologii IF PAN

OCENA DOROBKU I OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO
Doktora PIOTRA M. MICHALUKA

Droga zawodowa Kandydata

Dr Piotr Marian Michaluk jest absolwentem Politechniki Wrocławskiej. W roku 2003 uzyskał tam magisterium z zakresu biotechnologii na Wydziale Chemicznym. Po studiach, w latach 2003-2010 dr Michaluk był doktorantem w Pracowni Neurobiologii w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego w Warszawie. Stopień doktora nauk biologicznych uzyskał na Uniwersytecie w Utrechcie (Holandia) na podstawie rozprawy zatytułowanej „*Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) at the Synapse: Functions and Targets*", wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Leszka Kaczmarka i prof. Johannesa Bosa. Stopień doktora nauk biologicznych pana Michaluka został uznany przez Radę Naukową Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN w marcu 2011 r.

W latach 2011-2017 dr Michaluk pracował w Londynie (*University College London, Queen Square Institute of Neurology, Laboratory of Synaptic Imaging*) najpierw jako stypendysta Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (2011-2012) a potem jako pracownik badawczy (*research associate*). Od roku 2017 dr Michaluk pracuje w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN w Pracowni Neurobiologii, najpierw jako specjalista badawczo-techniczny a od sierpnia 2024 r. – jako adiunkt.

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.edu.pl
www.if-pan.edu.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49

Dorobek naukowy

a. wskaźniki naukometryczne

Kandydat jest współautorem w sumie 24 prac wg. bazy Web of Science, z czego 5 stanowi oceniane Osiągnięcie Naukowe. Są to wartościowe artykuły opublikowane w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym (sumaryczny *Impact Factor* tych czasopism wynosi 150). Współczynnik Hirscha Kandydata wynosi 16; liczba cytowań – ponad 1700.

Dr Michalik z powodzeniem zdobywa fundusze na swoje badania – obecnie jest kierownikiem grantu Opus finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, zaś w latach 2018-2022 kierował projektem Sonata, również finansowanym przez NCN. Ponadto pracował jako wykonawca w kilku innych projektach.

Aktywność naukowa dr Michaluka była wielokrotnie nagradzana m.in. w formie stypendiów wyjazdowych i nagród za prezentację wyników na konferencjach naukowych. Na podkreślenie zasługuje dwukrotny udział w zespołach, które otrzymały prestiżową Nagrodę Konorskiego przyznawaną przez Polskie Towarzystwo Badań Układu Nerwowego i Komitet Neurobiologii PAN za najlepsze publikacje – za rok 2008 oraz za rok 2022 – czy też stypendium START Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (2009 r.) oraz stypendium FNP Kolumb – na staż podoktorski (2011 r.). Ponadto dr Michaluk dwukrotnie otrzymał nagrodę Dyrektora Instytutu Biologii Doświadczalnej za najlepsze publikacje – za lata 2022 i 2025.

b. Charakterystyka osiągnięć naukowych

Przed uzyskaniem stopnia doktora dr Michaluk opublikował dziesięć prac. Pierwsza publikacja, w której dr Michaluk jest współautorem (wraz z zespołem prowadzonym przez profesora Ożyhara z Politechniki Wrocławskiej) dotyczy badań strukturalnych specyficznego receptora jądrowego i jego interakcji z DNA (*Biochemistry*). Wszystkie następne publikacje dotyczą zagadnień z zakresu *neuroscience*, w szczególności roli metaloproteazy macierzowej 9 (MMP-9) w różnych aspektach regulacji aktywności neuronalnej. Są to prace wieloautorskie, opublikowane w renomowanych czasopismach (m.in. *Journal of Biological Chemistry, Journal of*

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.edu.pl
www.if-pan.edu.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49

Neuroscience, Molecular and Cellular Neuroscience), natomiast wkład dr Michaluka w powstanie tych prac nie jest dokładnie opisany.

Spośród wykazanych czternastu prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora pięć wchodzi w skład osiągnięcia naukowego. Pozostałe dziewięć prac opublikowano w renomowanych czasopismach, takich jak *Neuron*, *Journal of Neuroscience*, *Cell Reports* czy *Cellular and Molecular Life Science*. Sądząc po ekspertyzie dr Michaluka wynikającej z głębszej analizy Jego udziału w powstanie Osiągnięcia Naukowego można przypuszczać, że Jego znaczący wkład w powstanie tych publikacji polegał na zaawansowanych analizach mikroskopowych.

Dorobek dydaktyczny i organizacyjny

Dr Michaluk wykazuje w swoim Autoreferacie pełnienie funkcji promotora pomocniczego w zakończonym przewodzie doktorskim oraz pełnienie funkcji promotora pracy inżynierskiej wykonanej na Wydziale Biologii i Biotechnologii SGGW w Warszawie a także sprawowanie opieki nad 9 studentami odbywającymi staże w Instytucie Biologii Doświadczalnej czy też w Instytucie Neurologii w Londynie. Spośród osiągnięć organizacyjnych Kandydata należy wymienić udział w organizacji konferencji i sympozjów naukowych takich jak Sympozjum Warszawskiego Towarzystwa Biologii Gleju czy też warszawskiej konferencji *Neurons in Action*. Ponadto Kandydat bierze czynny udział w popularyzacji wiedzy naukowej.

Ocena Osiągnięcia Naukowego

Osiągnięcie Naukowe stanowi cykl publikacji pod wspólnym tytułem: „Dynamika molekularna w mikrośrodowisku okołosynaptycznym – badania z użyciem zaawansowanych technik mikroskopowych". Jest to cykl pięciu prac opublikowanych stosunkowo niedawno w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, w tym jedna praca przeglądowa (*Biomolecules* 2021, IF=4,8), jedna metodyczna (*Nature Protocols* 2022, IF=16,0) i trzy oryginalne artykuły eksperymentalne (*eLife* 2021, IF=8,7; *Cells* 2025, IF=5,2; *Science Advances* 2025, IF=12,5). We wszystkich tych pracach Kandydat jest autorem lub współautorem korespondencyjnym.

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.edu.pl
www.if-pan.edu.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49

Opis Osiągnięcia jest wyczerpujący. Nie mogę jednak przejść do porządku nad pojawiającym się od razu w pierwszym zdaniu (i dalej też) określeniu „synapsa glutamatergiczna"... To co prawda lepsze niż często spotykana niepoprawna nazwa „glutaminergiczna" na określenie transmisji (czy też synapsy) z udziałem glutaminianu, ale jestem zdziwiona, że osoba pochodząca z tak renomowanego ośrodka jakim jest Pracownia Neurobiologii w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN może używać tego określenia.

W dwóch publikacjach (*eLife* 10, 2021; doi: 10.7554/eLife.64714 oraz *Nature Protocols* 17, 2022; doi: 10.1038/s41596-022-00732-4) opisany jest genetyczny wariant glejowego transportera glutaminianu, GLT1 (EAAT2) jako białko fuzyjne z białkiem fluorescencyjnym dobranym tak, że fluoryzuje ono wydajnie przy pH zewnątrzkomórkowym ca. 7,4 natomiast jest niemal całkowicie niewidoczne w pH <6,0 (*Super-Ecliptic pHluorin*, SEP). Miejsce insercji „wstawki" kodującej białko fluorescencyjne zostało starannie zoptymalizowane, odpowiednio do realizacji celów pracy. Analiza elektrofizjologiczna transfekowanych komórek HEK 293T pokazała integralność funkcjonalną uzyskanego białka fuzyjnego, tj. GLT1-SEP.

W pierwszej z tych publikacji zastosowano konstrukt m.in. do zaawansowanych analiz astrocytów hipokampa szczura (P0) w hodowlach dysocjowanych. Wykazano m.in. że frakcja błonowa transportera glutaminianu podlega szybkiej wymianie na drodze „recyklingu" a nie dyfuzji lateralnej oraz że domena C-końcowa transportera GLT1 jest kluczowym regulatorem obecności tego transportera w błonie. Dalsze analizy – też z zastosowaniem hodowli organotypowych hipokampa – pozwoliły powiązać dynamikę błonową transportera GLT1 z trwającą aktywnością synaptyczną i dynamiką sygnałów wapniowych.

Oprócz „właściwych rezultatów" uzyskanych w tej publikacji jest tam wiele informacji na temat optymalizacji konstruktów genetycznych, zastosowanych wektorów ekspresyjnych i obecnych w nich sekwencji promotorowych czy też rozważań na temat poziomu ekspresji transportera GLT1 i badanych wariantów genetycznych.

Druga z tych prac, opublikowana w *Nature Protocols* jest bezpośrednią kontynuacją wyżej opisanych badań. Przedstawiono w niej ten sam konstrukt (tj. GLT1-SEP) wraz z kryteriami projektowania podobnych konstruktów, wstępne funkcjonalne testowanie konstruktu w liniach komórkowych i pierwotnych hodowlach neuronalnych a także kontrolne eksperymenty manipulacji pH oraz dokładnie protokół całokomórkowego FRAP (*fluorescence*

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.edu.pl
www.if-pan.edu.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49

recovery after photobleaching), pozwalającego na śledzenie dyfuzji lateralnej w błonie i pionowej wymiany przez błonę, na co pozwala zależność fluorescencji SEP od pH.

Osobiście jestem pod wrażeniem opisanego podejścia, zaawansowanych technik zarówno z zakresu biologii molekularnej jak i technik biofizycznych pozwalających na śledzenie badanych zjawisk (m.in. wykonanie sekwencji FRAP w trybie tornado na mikroskopie dwufotonowym i konfokalnym ze skanowaniem laserowym a także analizę kinetyczną z dopasowaniem nieliniowym). Opublikowany protokół jest przedstawiony jako „...adaptowalny do dowolnego białka błonowego, w którym można wprowadzić pH-wrażliwy zewnątrzkomórkowy znacznik...". Jak pisze Autor: „Publikacja w *Nature Protocols* odzwierciedla uznanie przez społeczność naukową podejścia za istotny postęp metodologiczny (...)" – rzeczywiście tak nam się wydaje, ale zadziwia fakt, że ta praca jest cytowana tylko 9 razy...

Następną publikacją przedstawioną przez dr Michaluka jako istotną część Osiągnięcia Naukowego jest praca przeglądowa opublikowana w *Biomolecules* (2021, 11; doi: 10.3390/biom11091367), opisująca uwalnianie przez astrocyty glioprzekaźników. Przegląd ten jest bardzo interesujący, omawia w sposób szczegółowy publikacje rozpracowujące molekularne mechanizmy odpowiedzialne za uwalnianie pęcherzyków synaptyczno-podobnych, maszynerię konieczną do ich uwalniania a także rolę jonów wapniowych w tych procesach, z uwzględnieniem alternatywnych mechanizmów regulowania egzocytozy opartych o GTP. Ponadto, w pracy tej omówiono dane na temat zmian jakie zachodzą w astrocytach oraz w procesach regulujących egzocytozę w warunkach patologicznych. I rzeczywiście, można się zgodzić ze stwierdzeniem Autora, że ta praca przeglądowa „...dostarcza ram konceptualnych, w których osadzona jest kolejna publikacja..."

Ta „kolejna publikacja" (*Cells* 14, 2025; doi: 10.3390/cells14030159) identyfikuje czynnik wydzielany przez astrocyty, który ma bezpośredni wpływ na morfologię kolców dendrytycznych. Jest to mała glikoproteina, Lipocalina-2 (Lcn2), której ekspresja a także wydzielanie wzrasta w subpopulacji astrocytów hipokampa pod wpływem pobudzenia sieci neuronalnej. Badania prowadzono w modelu *ex vivo* (analizy immunohisto- i immunocyto-chemiczne skrawków mózgu po podaniu kwasu kainowego do obszaru CA1 hipokampa myszy) oraz *in vitro* (m.in. dysocjowane hodowle pierwotne hipokampa zawierające neurony i

astrocyty poddane chemicznemu długotrwałemu pobudzeniu synaptycznemu ale także czyste hodowle astrocytów). Żeby lepiej zbadać mechanizmy indukujące uwalnianie Lcn2 komórki transfekowano konstruktem genetycznym kodujących Lcn2 w sprzęgnięciu z białkiem fluorescencyjnym SEP, co pozwoliło śledzić zmiany na poziomie pojedynczych pęcherzyków z zastosowaniem mikroskopii TIRF. Ciekawym aspektem badań było wykazanie bezpośredniego wpływu Lcn2 na morfologię różnych rodzajów kolców dendrytycznych (badania *in vitro*, komórki z ekspresją GFP). Praca jest zaawansowana metodycznie, zaplanowane eksperymenty i uzyskane wyniki składają się na ładną opowieść prowadzącą do wniosku, że faktycznie glikoproteina Lcn2 pochodzenia astrocytarnego odgrywa rolę w regulacji morfologii kolców dendrytycznych a więc i w plastyczności neuronalnej. Jednak wszystkie badania przeprowadzone na modelach *in vitro* pokazują, że „reaktywność" Lcn2 na bodźce (czy też „reaktywność" komórek na Lcn2) jest stosunkowo szybka: np. jonofor wapniowy czy ATP uwalniają Lcn2 do medium już po 20 minutach a glutaminian – po 10-ciu, egzogennie podana Lcn2 wywołuje zmiany w morfologii kolców dendrytycznych po 20 min, zmiany w ekspresji mRNA kodującego Lcn2 wywołane chemicznie indukowanym długotrwałym wzmocnieniem synaptycznym (cLTP) obserwowano po 24 h. Skąd zatem aż 18-dniowy interwał czasowy pomiędzy domózgowym podaniem kwasu kainowego a obserwacjami biochemicznymi w badaniach *ex vivo*?

Publikacja zgłoszona jako ostatnia w cyklu stanowiącym Osiągnięcie Naukowe ukazała się w prestiżowym czasopiśmie *Science Advances* (11, 2025; doi: 10.1126/sciadv.adx2369) i dotyczy szczegółowego opisu interakcji metaloproteazy macierzowej 9, MMP 9, i czynnika wzrostu pochodzenia mózgowego, BDNF. W pracy wykorzystano zaawansowane narzędzia badawcze, m.in. mikroskopię ekspansywną umożliwiającą obserwację lokalizacji badanych białek w kolcach dendrytycznych, mikroskopię TIRF do obserwacji egzocytozy pojedynczych pęcherzyków, mikroskopię dwufotonową umożliwiającą obrazowanie pojedynczych kolców dendrytycznych czy też mikroskopię FLIM-FRET do obserwacji aktywacji receptora dla BDNF, trkB, w pojedynczych kolcach dendrytycznych. W tej publikacji również wykorzystano białko SEP do wyznakowania zarówno BDNF-u jak i MMP 9 (i ich wariantów genetycznych), co pozwoliło nie tylko na uwidocznienie ich lokalizacji w kolcach dendrytycznych ale też na

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.edu.pl
www.if-pan.edu.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49

przeprowadzenie arcy-ciekawych badań pozwalających określić przestrzenną dynamikę uwalniania tych dwóch białek po aktywacji neuronów. Jednym z wniosków tej publikacji jest określenie MMP 9 jako autokrynnego regulatora dojrzewania BDNF.

Uwagi ogólne

Autoreferat prezentujący wszystkie aspekty działalności dr. Michaluka, w tym tzw. Osiągnięcie Naukowe jest dobrze przygotowany, zarówno pod względem merytorycznym, jak i formalnym. Zwraca uwagę położenie nacisku na jasność tłumaczenia założeń i interpretację wyników poszczególnych eksperymentów. Ponadto, bardzo czytelnie przedstawiono publikacje wchodzące w skład Osiągnięcia Naukowego z jasnym opisem udziału Habilitanta w każdej z nich.

Ogólnie, jestem pod wrażeniem zastosowania zaawansowanych technik z zakresu biologii molekularnej do wykonania złożonych konstruktów genetycznych, kodujących badane białka takie jak GLT1, Lcn 2 czy MMP 9 i BDNF połączone z białkiem SEP. Ponadto, wykorzystano wiele wektorów niosących sekwencje innych białek fluorescencyjnych – zarówno do wizualizacji lokalizacji określonych kompartmentów komórkowych ale także do wykonania zawansowanych analiz m.in. opartych o zjawisko bezpromienistego przeniesienia energii (FRET) do określenia bezpośredniej interakcji białko-białko.

Opisy zastosowanych technik (oraz uzyskanych wyników) czyta się w publikacjach „płynnie", ale trzeba sobie zdać sprawę jak trudne są to eksperymenty. Wymagające jest nie tylko stworzenie samych konstruktów genetycznych ale też transfekcja komórek (nierzadko dwoma wektorami), w szczególności w hodowlach pierwotnych a jeszcze bardziej – w pierwotnej hodowli neuronów – oraz zoptymalizowanie warunków do pożądanej ekspresji białek fuzyjnych, nie mówiąc o zoptymalizowaniu warunków właściwych dla danej metody detekcji. Wszystkie te manipulacje pozwoliły na zastosowanie bardzo zaawansowanych technik mikroskopowych – co jest wspaniałym przykładem znaczenia, jakie ma interdyscyplinarne podejście w nowoczesnych naukach przyrodniczych. Pozwala ono bowiem zadawać fundamentalne pytania z zakresu neurobiologii i odpowiadać na nie technikami biofizycznymi. To podejście również może stanowić ważny wkład Kandydata do rozwoju wiedzy, poza wszystkimi wynikami uzyskanymi w poszczególnych publikacjach przedstawionych jako Osiągnięcie Naukowe i będącymi nowością naukową.

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.edu.pl
www.if-pan.edu.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49

Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Zgadzam się w pełni z tym co Kandydat napisał w swoim Autoreferacie: „...Pod względem metodologicznym cykl wnosi do dziedziny trwałe narzędzie: całokomórkowy FRAP w oparciu o ekspresję białek połączonych z pH-zależnym znacznikiem do ilościowego pomiaru recyklingu błonowego białek w żywych komórkach. Stanowi także wykorzystanie zintegrowanego systemu TIRF wraz ze stymulacją chemiczną i elektryczną do badania procesów regulowanej egzocytozy, a także mikroskopii dwufotonowej połączonej z fotouwalnianiem glutaminianu i obrazowaniem czasu życia fluorescencji umożliwiającej obserwacje sygnalizacji biochemicznej ograniczonej do pojedynczej synapsy w czasie rzeczywistym".

Osobiście nie jestem zwolennikiem koncepcji, że analizując kwalifikacje kandydata do stopnia naukowego doktora habilitowanego powinno się oceniać więcej niż jedno osiągnięcie, ale jeżeli koniecznym byłoby wyodrębnienie „drugiego osiągnięcia", to niewątpliwie wyżej opisane „trwałe narzędzie" metodologiczne, jakie badania dr Michaluka wnoszą do dziedziny mogłoby być za takowe uznane.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Stwierdzam, że dr Piotr Marian Michaluk spełnia wszystkie warunki stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego, jakie znajdują się w art. 219 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 r. Oceniany zbiór pięciu publikacji stanowiących Osiągnięcie Naukowe jak i pozostały dorobek naukowy Kandydata oraz Jego aktywność organizacyjna, a także ogólne wrażenie, jakie wywarły na mnie przedstawione publikacje, w pełni upoważniają mnie do przedstawienia Radzie Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie wniosku o nadanie doktorowi Piotrowi M. Michalukowi stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Prof. dr hab. Marta Dziedzicka-Wasylewska

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.edu.pl
www.if-pan.edu.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49