Prof. dr hab. Jacek Kuźnicki
Międzynarodowy Instytut Biologii
Molekularnej i Komórkowej w Warszawie

Warszawa, dn. 25 czerwca 2021 r.

Recenzja osiągnięcia naukowego na podstawie cyklu prac „Białka regulujące funkcję RNA w plastyczności neuronalnej" oraz ocena całokształtu dorobku naukowego w postępowaniu habilitacyjnym dr. Witolda Konopki

Uchwałą nr 172/RN/GE/2021 Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN z dnia 28 kwietnia 2021 r. zostałem powołany na recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym dr. Witolda Konopki w związku z Jego wnioskiem o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne. Opinię przygotowałem na podstawie przekazanych mi dokumentów, zawierających niezbędne informacje.

I. Przebieg kariery zawodowej

Habilitant ukończył studia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, uzyskując 2 lipca 2000 r. stopień magistra biologii molekularnej. W latach 2001-2006 był doktorantem w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. W 2006 r. uzyskał tamże stopień doktora nauk biologicznych. W latach 2006-2012 rozwijał swoją karierę naukową jako post-doc w Heidelbergu w *German Cancer Research Center (DKFZ)*. W 2012 r. objął stanowisko kierownika Pracowni Modeli Zwierzęcych Centrum Neurobiologii Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, które zajmuje do chwili obecnej. W latach 2014-2018 był Zastępcą Dyrektora ds. Naukowych.

II. Ocena cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą do wnioskowania o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego

Cykl pięciu prac oryginalnych i jednej pracy przeglądowej, które powstały w latach 2011-2020, stanowi wskazane przez Habilitanta osiągnięcie naukowe zatytułowane „Białka regulujące funkcję RNA w plastyczności neuronalnej". Są to białka Dicer i TDP-43. Omówienie celu naukowego osiągnięcia i uzyskanych wyników rozpoczyna się od Wstępu, który jest połączeniem wyników własnych oraz innych autorów i stanowi krótkie podsumowanie wiedzy na powyższy temat. Następnie Habilitant opisuje wykorzystywanie

gryzoni jako modelu badawczego w opisywanych badaniach oraz zastosowanie technologii oligonukleotydowych do regulacji ekspresji genów. Główną część referatu stanowią dwa kolejne rozdziały, pt. „Kontrola plastyczności neuronów przez białko Dicer i mikroRNA" oraz „TDP-43 jako białko kluczowe w rozwoju chorób neurodegeneracyjnych". W tych rozdziałach dr Konopka bardzo precyzyjnie i ładnym językiem opisuje wyniki znajdujące się w poszczególnych pracach wchodzących w ich skład. I tak:

- Kluczową pracą rozpoczynającą ten cykl jest artykuł w *Journal of Neuroscience* z 2010 r. W tym prestiżowym dla środowiska neurobiologów piśmie **Konopka** i wsp. opublikowali ważną pracę na temat roli mikroRNA w dorosłych, w pełni zróżnicowanych neuronach. Wykorzystali indukowalny wariant rekombinazy Cre (CreERT2 indukowany tamoksyfenem) pod kontrolą elementów regulatorowych genu CaMK2a. Po indukcji delecji genu Dicer1 w przodomózgowiu dorosłej myszy, zaobserwowali postępującą utratę specyficznych dla mózgu mikroRNA. Po 12 tygodniach od delecji, zanim pojawiły się objawy neurodegeneracji, myszy wykazywały zwiększoną pamięć. Na poziomie subkomórkowym i molekularnym fenotyp tych myszy cechowały wydłużone kolce dendrytyczne w kształcie filopodiów i zwiększona translacja białek związanych z plastycznością synaptyczną, takich jak BDNF i MMP-9. Ta kluczowa praca, która pokazała, że mikroRNA są istotnym graczem w procesie uczenia się i pamięci ssaków była już cytowana co najmniej 218 razy. Zaraz po niej ukazał się artykuł przeglądowy tych autorów, również wchodzący w skład cyklu.
- W pracy opublikowanej w *Neuroscientist* w 2011 r. **Konopka** i wsp. omówili rolę mikroRNA jako regulatorów tworzenia pamięci. W przejrzysty sposób opisano w niej zmianę w postrzeganiu funkcjonowania mikroRNA jako zwykłych inhibitorów bieżącej translacji do roli polegającej na utrzymaniu w gotowości do translacji określonych mRNA. Tym samym ich zadanie okazuje się być bardziej precyzyjne i regulowalne, gdyż polega na zapobieganiu syntezie białek w dendrytach neuronów i selektywnym odblokowaniu w tych synapsach, które zostały aktywowane. Praca ta była już cytowana ponad 30 razy.
- W kolejnej pracy opublikowanej w 2014 r., ponownie w *Journal of Neuroscience*, Vinnikow, [15 współautorów] i **Konopka** pokazali, że zależna od Dicer utrata mikroRNA w neuronach dorosłych myszy powodowała przewlekłą nadaktywację szlaków sygnałowych PI3K-Akt-mTOR. To prowadziło do ciężkiej otyłości hiperfagicznej związanej z brakiem równowagi w poziomach neuropeptydów. Był to efekt specyficzny dla tego szlaku, co stwierdzono stosując m.in. rapamycynę, inhibitor mTOR lub oligonukleotydy naśladujące mikroRNA, skierowane na składniki szlaku PI3K-Akt-mTOR. Te działania zmniejszały otyłość u myszy pozbawionych Dicer. Dane te potwierdziły i rozszerzyły wiedzę na temat roli neuronalnych mikroRNA wskazując, iż kontrolują one procesy homeostazy energetycznej. Praca była cytowana co najmniej 44 razy.
- W monografii Vinnikov, Domanskyi, **Konopka** z 2017 r., jak opisano ją w autoreferacie i jak można sądzić z tytułu „Continuous delivery of oligonucleotides into the brain", autorzy opisali mechanizm dostarczania oligonukleotydów naśladujących (wg Habilitanta „mimikujących") mikroRNA do mózgu. Cząsteczki były stabilizowane oraz

wyposażano je w barwnik fluorescencyjny, aby można było je dostrzec w tkance (jego sekwencja była umieszczona na niefunkcjonalnej nici; Vinnikov i wsp., 2017). Były stosowane u myszy pozbawionych Dicer celem odtworzenia brakujących mikroRNA, które zniknęły w wyniku usunięcia genu. Trudno jest jednak dotrzeć do tej pracy, gdyż nie ma jej w PubMed, a link nie działa: DOI: https://doi.org/10.1007/7657_2016_3c

- Praca Koza, [8 współautorów] i **Konopka** z 2019 r. opublikowana w *Neurobiological Diseases* opisuje właściwości szczurów, którym obniżono poziom białka wiążącego TAR DNA 43 (TDP-43). Wykazywały one zwiększone poczucie strachu, a indukcja LTP w CA3-CA1 hipokampa w neuronach zubożonych w TDP-43 powodowała bardziej stabilne wzmocnienie synaptyczne. Stymulacja pentylenetetrazolem w postaci odpowiedzi homeostatycznej neuronów nie występowała u mutantów w przeciwieństwie do neuronów zwierząt kontrolnych. Na poziomie molekularnym obniżenie poziomu TDP-43 miało największy wpływ na izoformę FLOP receptora AMPA, powodując wzmocnienie połączenia synaptycznego i poprawę tworzenia śladu pamięciowego strachu. Te wyniki sugerują, że TDP-43 reguluje zależną od aktywności plastyczność neuronów, prawdopodobnie poprzez regulację splicingu niektórych genów.
- W pracy z 2020 r. Koza, Przybyś, Klejman, Olech-Kochańczyk i **Konopk**a opublikowanej w *JoVE Journal* opisano specyficzną, nowatorską metodę tworzenia transgenicznych szczurów. Jej zastosowanie może znacznie ułatwić i przyśpieszyć uzyskiwanie tych transgenicznych zwierząt, co wpłynie znacząco na postęp w neurobiologii. Szczury, w przeciwieństwie do myszy, są lepszym modelem do badania zachowań.

Prace wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego zostały opublikowane w czasopismach o dużym znaczeniu dla neurobiologii i stanowią bardzo istotny, oryginalny wkład dr. Konopki w wiedzę dotyczącą białka Dicer - kluczowej rybonukleazy w przetwarzaniu mikroRNA oraz białka TDP-43 należącego do rodziny rybonukleoprotein i zaangażowanego w regulację transkrypcji genów i przetwarzania RNA. Cytowania prac wchodzących w skład cyklu wynoszą prawie 300, mimo tego, że dwie prace zostały opublikowane dopiero w ostatnich dwóch latach (2019 i 2020). Pozycja na listach autorów tych prac potwierdza główną rolę Habilitanta w realizacji badań; w czterech pracach jest ostatnim autorem, a w dwóch - pierwszym. Habilitant wskazuje, że łącznie we wszystkich pracach Jego udział polegał na stworzeniu koncepcji pracy i planowaniu doświadczeń, wykonaniu doświadczeń, dostarczeniu odczynników i narzędzi analitycznych, analizie danych, wizualizacji danych, przygotowaniu manuskryptów, nadzorze nad doświadczeniami i konsolidacją danych, przygotowaniem odpowiedzi merytorycznych dla recenzentów. Takie połączenie przez dr. Konopkę swoich udziałów we wszystkich pracach będących osiągnięciem naukowym w jedno oświadczenie wydaje się niewłaściwe, gdyż trudno to skorelować z oświadczeniami współautorów, z których każdy opisał swój udział w poszczególnych pracach. Powinien, tak jak oni, opisać, jak wyglądał jego udział w każdej pracy. Inny jest bowiem udział autora pierwszego, a inny ostatniego, różny może być też udział w pisaniu artykułu przeglądowego. Tym niemniej, pozycja dr. Konopki aż w czterech

z tych prac na miejscu ostatnim i wskazanie go jako autora korespondującego bez wątpienia pokazuje jego kluczowy w nich udział. Ponadto, fakt, że w dwóch pozostałych publikacjach jest pierwszym i korespondującym autorem, przekonuje co do wykonania przez niego znaczącej części pracy koncepcyjnej i doświadczalnej.

Podsumowując, cykl sześciu prac przedstawionych przez dr. Witolda Konopkę jako osiągnięcie habilitacyjne całkowicie spełnia warunki przewidziane Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

III. Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Działalność naukowa Habilitanta obejmuje również inne zagadnienia niż te wchodzące w skład osiągnięcia habilitacyjnego. Wyniki tej działalności są opublikowane w siedemnastu pracach, które ukazały się latach 2001-2020 w dobrych i bardzo dobrych czasopismach, takich jak *PNAS USA*, czy *PLoS Biology*. W pracach tych Habilitant jest często współautorem w środku listy autorów, a w dwóch jest autorem pierwszym. Zagadnienia omawiane w tych pracach to m.in. proliferacja i różnicowanie dorosłych neuronalnych komórek progenitorowych u myszy (*BBRC 2020*), nowy inhibitor polimeryzacji tubuliny jako czynnik zabijający komórki nowotworowe (*Cancers 2020*), neurony katecholaminowe podwzgórza pośredniczące w hipoglikemicznym głodzie (*Cell Metabolism 2020*), białka Amot i Yap1 regulujące neuronalne drzewko dendrytyczne (*PLoS Biology 2019*), klasyfikacja ścieżek pływackich myszy w teście *Morris Water Maze* (*Scientific Reports 2018*), zastosowanie mikroskopii Light-sheet do obrazowania mózgu transgenicznego szczura Thy1-GFP po procedurze „uprzezroczystowania" (ang. clearing) (*Scientific Reports 2016*), system Tet w mózgu z wykorzystaniem transgenicznych szczurów i wektorów lentiwirusowych (*Genesis 2009*), wpływ kinazy białkowej typu IV zależnej od jonów wapnia i kalmoduliny na behawioralne efekty kokainy (*Proc Natl Acad Sci USA 2008*), fosforylacja JNK1 SCG10 determinująca dynamikę mikrotubul i długość aksodendronów (*J Cell Biol 2006*), a także struktura regionu 5' jednostki transkrypcyjnej genu hst70: obecność intronu i wielokrotne miejsca inicjacji transkrypcji (*Biochemical Journal 2001*). Zróżnicowany zakres tematyki tych prac, współudział w badaniach różnych zespołów międzynarodowych i jakość publikowanych artykułów wskazują, iż Habilitant jest dojrzałym naukowcem o szerokim zakresie wiedzy i ekspertyzy oraz rozpoznawanym w środowisku naukowym.

Inne dokonania naukowe Habilitanta:

- Był kierownikiem sześciu grantów, z czego dwóch z Narodowego Centrum Nauki, **SONATA** w latach 2012-2017, w wysokości 1 mln zł, **HARMONIA** w latach 2013-2017 - 540 000 zł i ***Team Tech Core Facility*** Plus Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (2018-2019) - 1 500 000 zł.
- W latach 2012-2018 uczestniczył w trzech projektach NCN jako wykonawca.
- Obecnie realizuje grant **OPUS** NCN (2020-2023), 2 385 000 zł.
- Ma dwa patenty - polski i europejski.

- Wygłosił kilkanaście referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych.
- Opublikował jedną monografię.

IV. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę oraz współpracy międzynarodowej Habilitanta

Dr Konopka odbył **staż podoktorski** w zagranicznym ośrodku naukowym: od 10.**2006** do 06.**2012** r. w laboratorium Prof. Gunthera Schutza (*Molecular Biology of the Cell I*) w Niemieckim Centrum Badań nad Rakiem (*German Cancer Research Center*, DKFZ) w Heidelbergu w Niemczech.

Opieka nad pracami licencjackimi, magisterskimi, doktorskimi:

2014 - Ewelina Użarowska (Politechnika Warszawska) - praca magisterska „Konstrukcja wektora ekspresyjnego, zawierającego rekombinazę CreERT2, pod kontrolą promotora genu c-fos w sztucznym chromosomie bakteryjnym."

2015 - Piotr Soczewka (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego) - praca licencjacka „Konstrukcja wektora plazmidowego zawierającego gen białka fluorescencyjnego mCherry pod kontrolą promotora genu EF1α."

2016 - Paulina Koza (Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN) - praca doktorska „Wpływ obniżenia poziomu białka TDP-43 na procesy plastyczności neuronalnej w modelu transgenicznego szczura Syn-TDP-43WT". Promotor: prof. dr hab. Leszek Kaczmarek.

2019 - Piotr Bartochowski (Uniwersytet Warszawski) - praca magisterska „Wpływ wybranych diet na przyrost masy ciała oraz zmiany mikrobioty jelitowej u myszy szczepu C57BL/6".

Opieka nad pracą doktorską jako promotor pomocniczy (w trakcie recenzji):

2021 - Bartosz Zglinicki (Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN) „Wpływ usunięcia genu Dicer1 w tkance tłuszczowej na metabolizm myszy transgenicznych DicerAdipoqCreERT2". Promotor: prof. dr hab. Urszula Wojda; promotor pomocniczy - dr Witold Konopka.

Opieka nad trwającymi pracami doktorskimi:

- Karolina Hajdukiewicz - tytuł roboczy rozprawy doktorskiej „Rola podwzgórzowych neuronów AgRP/NPY w kształtowaniu fenotypu otyłości u myszy pozbawionych genu Dicer".
- Joanna Przybyś - tytuł roboczy rozprawy doktorskiej „Rola genu c-fos w regulacji mechanizmów głodu i sytości w modelu myszy transgenicznych DicerCaMKCreERT2".

- Gabriela Olech - tytuł roboczy rozprawy doktorskiej „Funkcji białka PML i ciałek jądrowych PML w mózgu dorosłych myszy".
- Natalia Chwin - tytuł roboczy rozprawy doktorskiej „Wpływ usunięcia genu Pten w neuronach hipokampalnych na funkcje poznawcze i interakcje społeczne u myszy".
- Katarzyna Gralec - tytuł roboczy rozprawy doktorskiej „Wpływ zwiększonej aktywności kinazy GSK3Beta w neuronach przodomózgowia na rozwój zaburzeń interakcji społecznych".
- Adam Karpiński - Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie TRI-BIO-CHEM, tytuł roboczy rozprawy doktorskiej „Analiza proteomiczna receptorów oraz kanałów jonowych zaangażowanych w patogenezę chorób neurodegeneracyjnych". Promotorzy: prof. dr hab. Ewa Bulska, prof. dr hab. Leszek Kaczmarek; promotor pomocniczy - dr Witold Konopka.

Działalność dydaktyczna:

- „microRNA-dependent regulation of neuronal plasticity in feeding behavior", W. Konopka; Seminarium Centrum Nowych Technologii, Uniwersytet Warszawski, 17.01.2020, Warszawa, Polska.
- „Dark side of neuroplasticity", W. Konopka; Seminarium Neuroplastyczne, Instytut Nenckiego PAN, 14.05.2014, Warszawa, Polska.
- „miR-103 protects against obesity", W. Konopka; Seminarium w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej, 13.02.2014, Warszawa, Polska.
- "Non-coding RNA - unexplored world", W. Konopka; Seminarium Zakładu Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej, Instytut Nenckiego PAN, 8.11.2012.
- Wykłady dla doktorantów w ramach Studiów Doktorskich Instytutu Nenckiego; temat: „Inducible Gene Expression" - lata 2015, 2017, 2019.

Osiągnięcia organizacyjne:

- Był Zastępcą Dyrektora ds. Naukowych Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w latach 2014-2018.
- Członek czterech komitetów organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych i międzynarodowych, z czego w trzech był współorganizatorem.
- Brał udział w panelach ekspertów NCN: PRELUDIUM, SONATA, OPUS; recenzował projekty OPUS i programu MNiSW Iuventus.
- Był recenzentem artykułów w następujących czasopismach międzynarodowych: *Brain Research, Developmental Biology, European Journal of Neuroscience, Genesis, Journal of Neuroscience, Neuroscience, Plasmid, PlosOne, Cell Death & Disease, BBA, Cerebral Cortex, Critical Reviews in Oncology/Hematology* i *IUMBM Life*.
- Jest członkiem dwóch towarzystw naukowych: Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego i *Society for Neuroscience*.

- Współpracował z sektorem gospodarczym w ramach części usługowej Pracowni Modeli Zwierzęcych, której jest kierownikiem (Helix Immunooncology, OncoArendi, Celon Pharma, Peptader).

Osiągnięcia popularyzujące naukę:

2016-2017 - Organizacja prezentacji w ramach Festiwalu Nauki na temat wykorzystania systemu do analizy behawioralnej IntelliCage.

4.07.2019 - Zajęcia w ramach wizyty studyjnej dla uczestników Szkoły Specjalnej przy Akademii Adamedu.

27.08.2020 - Wykład dla uczestników Obozu dla Zdolnej Młodzieży zorganizowanego przez Fundację Grupy Adamed w ramach programu Adamed SmartUP „Modele zwierzęce we współczesnej biologii i medycynie".

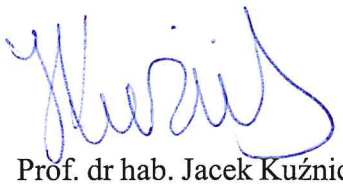
9.12.2020 - Wykład dla uczniów szkół licealnych w ramach wykładów Fundacji M. Nenckiego Wspierania Nauk Biologicznych „Modele zwierzęce we współczesnej biologii i medycynie".

V. Podsumowanie oceny poszczególnych obszarów działalności

Dorobek naukowy dr. Witolda Konopki to 22 publikacje w PubMed, ogólna liczba cytowań wg bazy Scopus = 809, bez autocytowań = 789, współczynnik Hirscha = 11. Na tym etapie kariery naukowej są to bardzo dobre wskaźniki. W przeszłości i obecnie z sukcesami zdobywa granty na realizację swoich projektów badawczych. Jego dorobek dydaktyczny i organizacyjny również jest znaczący. Podsumowując, bardzo pozytywnie i wysoko oceniam recenzowane osiągnięcie naukowe dr. Witolda Konopki oraz Jego aktywność naukową.

Wniosek końcowy

Uwzględniając wartość merytoryczną cyklu prac przedstawionego jako osiągnięcie naukowe oraz ocenę całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego, popularyzatorskiego i organizacyjnego dr. Witolda Konopki stwierdzam, że spełniają one kryteria wynikające z *Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).* Zwracam się do Wysokiej Rady Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN z wnioskiem o nadanie dr. Witoldowi Konopce stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne. Jednocześnie zgłaszam wniosek o wyróżnienie za przedłożone w postępowaniu osiągnięcie naukowe.



Prof. dr hab. Jacek Kuźnicki
Członek rzeczywisty PAN