



Prof. dr hab. Iwona J. Fijałkowska

Ocena osiągnięcia naukowego dr. Przemysława Adama Płocińskiego pt. „Identyfikacja bakteryjnych kompleksów białkowych o kluczowym znaczeniu dla fizjologii i rozwoju antybiotykooporności prątków gruźlicy, na podstawie badania oddziaływań białko-białko lub białko-kwas nukleinowy” w związku z wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Recenzja została przygotowana w oparciu o następujące materiały:

1. wniosek z dnia 14.08.2023 r. o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego,
2. autoreferat,
3. wykaz osiągnięć naukowych,
4. oświadczenia współautorów prac przedstawionych do osiągnięcia naukowego,
5. kopie prac stanowiących zaprezentowane osiągnięcie,
6. potwierdzenie współpracy zagranicznej,
7. dodatkowe informacje o dorobku dydaktycznym i popularyzatorskim.

Pan dr Przemysław Adam Płociński w 2007 roku otrzymał tytuł magistra biologii na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Po 4 latach, uzyskał tytuł doktora nauk medycznych (z wyróżnieniem) w Instytucie Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk. Rozprawa doktorska przygotowana pod kierunkiem Prof. dr. hab. Jarosława Dziadka i Prof. Malini Rajagopalan dotyczyła charakterystyki białka CrgA zaangażowanego w syntezę ściany komórkowej w procesie podziału komórki *Mycobacterium tuberculosis*. Ponadto, w 2012 roku Habilitant ukończył studia podyplomowe na wydziale Matematyki i Informatyki Uniwersytetu Łódzkiego.

Obecnie, Pan dr Przemysław Adam Płociński jest zatrudniony jako adiunkt w Katedrze Immunologii



i Biologii Infekcyjnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego oraz w Pracowni Genetyki i Fizjologii *Mycobacterium*, Instytutu Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, w Łodzi. W 2014 roku, przez 6 miesięcy pracował w Medical Research Council National Institute for Medical Research, w Instytucie Francisa Cricka, w Londynie, w Wielkiej Brytanii, a w latach 2010- 2016 w Pracowni Biologii RNA i Genomiki Funkcjonalnej, Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, w Warszawie. Przez trzy lata (2007-2010) pracował w University of Texas, Health Science Center at Tyler, w USA.

Omówienie osiągnięcia naukowego przedstawionego do habilitacji

Habilitant spośród wielu publikacji składających się na jego dorobek naukowy wybrał 5 publikacji, opublikowanych w latach 2012-2019, wykazujących spójność tematyczną. Zaprezentowane publikacje opisują badania kompleksów białkowych związanych z syntezą ściany komórkowej, wchodzących w skład degradosomu RNA czy systemów naprawy uszkodzeń DNA prątków gruźlicy. Przeprowadzone badania przyczyniły się do szerszego poznania fizjologii prątków. Wyniki przeprowadzonych badań, w ocenie Habilitanta, mają być punktem startowym dla dogłębniejszego poznania mechanizmów lekooporności oraz wyznaczenia nowych celów terapii. W dalszej perspektywie, mają umożliwić przeprowadzenie badań, których wyniki mogą mieć znaczenie praktyczne tj. opracowanie nowych leków przeciwprątkowych. Takie badania są szczególnie istotne wobec obserwowanej często lekooporności prątków i wzrastającej liczby zachorowań.

W dwóch spośród zaprezentowanych do osiągnięcia publikacjach (*J Bacteriology*, 2012 i *Tuberculosis*, 2013) opisane są badania białek CwsA i CrgA biorących udział w procesie podziału komórki prątków. Wykazano, że białka CwsA i CrgA, oddziałują ze sobą, biorąc udział w syntezie istotnego składnika ściany komórkowej - peptydoglikanu. Wykazano, że zarówno nadprodukcja jak i brak CwsA ma wpływ na wzrost, podział komórek i kształt komórek prątków. Co istotne, wykazano, że wahania wewnątrzkomórkowego poziomu białka CwsA powodują zmiany w profilu antybiotykooporności prątków, zwiększając ich wrażliwość na cefsulodynę. Kontynuacja tych badań może mieć duże znaczenie w poszukiwaniu ścieżek terapii przeciwprątkowej. W obu



publikacjach Habilitant jest pierwszym autorem.

Z powodzeniem podjęto próbę optymalizacji metody identyfikacji oddziaływań między białkami poprzez oczyszczanie kompleksów białkowych z wykorzystaniem chromatografii powinowactwa sprzężonej ze spektrometrią mas. Metoda ta umożliwiła analizę oddziaływań między poszczególnymi płaszczyznami białek kompleksu DNA - zależnej polimerazy RNA czy niektórymi białkami szlaków naprawy. Praca została opublikowana w 2014 roku w *PLoS One*. Habilitant jest pierwszym autorem.

Zmodyfikowana metoda analizy oddziaływań białko-białko umożliwiła również badania roli białek LigC i Prim-PolC w procesach naprawy DNA przez wycięcie zasady w komórkach prątków. U prątków homolog Prim-PolD, zwany Prim-PolC, oddziałuje ze swoim operonowym partnerem Ligazą C, odgrywając rolę w szlakach naprawy przez wycięcie. Zarówno LigC i LigD, działają w fazie stacjonarnej, w naprawie przez wycięcie zasady i łączeniu niehomologicznych końców i znajdują się w sąsiedztwie innych genów, które przeprowadzają wcześniejsze etapy nukleolizy, syntezy lub wiązania końców DNA. Wykazano, że oddziaływania pomiędzy ligazą LigC a Prim-PolC, endonukleazą IV, dwoma paralogami egzonukleazy III (ExoIII oraz XthA), a także glikozylazami FPG i MPG umożliwiają przeprowadzenie *in vitro* reakcji naprawy uszkodzeń, tj. wycięcia uszkodzonego nukleotydu, defosforylacji końca 3', wypełnienia przerwy przez Prim-PolC oraz ligacji, a co za tym idzie przywrócenia ciągłości nici DNA. Podjęto również próbę krystalizacji białka Prim-PolC i rozwiązano strukturę krystaliczną apoenzymu Prim-PolC, jak i Prim-PolC w kompleksie z DNA. Poznanie struktury może być przydatne w planowaniu swoistych inhibitorów wykorzystanych w terapii przeciwgruźliczych. Praca opisująca te badania, opublikowana w *Nature Communications*, powstała w 2017 roku m.in. w wyniku finansowania z projektu Mobilność Plus III, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. W pracy tej Habilitant jest pierwszym autorem.

Poznanie mechanizmów adaptacji transkrypcyjnej, w warunkach zmieniającego się środowiska towarzyszącego infekcji, jest istotne w badaniu molekularnej patogenezy *M. tuberculosis*. Istotnym etapem adaptacji transkrypcyjnej jest mechanizm degradacji RNA. Wykorzystując wcześniejsze doświadczenia w oczyszczaniu kompleksów białkowych, a także modyfikując metodę analizy kompleksów białka z RNA, uwzględniając zdolność prątków do inkorporacji do RNA fotoaktywowanego analogu rybonukleotydu - 4-tio-urydyny, zanalizowano białka uczestniczące w



kompleksach wiążących RNA. Po wyodrębnieniu poszczególnych składników degradosomu przeprowadzono charakterystykę molekularną poszczególnych składników degradosomu RNA *M. tuberculosis*. Zidentyfikowano enzymy oddziałujące z RNA związane z degradosomem: fosforylaze polinukleotydową (PNPazę), zależną od ATP helikazę RNA (RhIE), rybonukleazę E (RNazę E) i rybonukleazę J (RNazę J). Oczyszczenie poszczególnych składników kompleksu pozwoliło na dalsze analizy interakcji białko-białko i rozpoznanie oddziaływań z białkami szoku zimna CspA, CspB, wpływającymi na fałdowanie struktur tworzonych przez cząsteczki RNA, pomoc w dostarczaniu, czy rozwijaniu RNA do degradosomu. Otrzymane wyniki, a także wykazanie ważnej pleiotropowej roli enzymów degradosomu w metabolizmie RNA prątków, może być pomocne w planowaniu przyszłych strategii przeciwprątkowych. Wyniki te były finansowane m.in. z projektu Sonata (2016-2019), w którym Habilitant był kierownikiem. Zostały opublikowane w *Nucleic Acids Research* w 2019 roku. W pracy tej Habilitant jest pierwszym i korespondencyjnym autorem.

Podsumowując, we wszystkich wybranych publikacjach dr Przemysław Adam Płociński jest pierwszym autorem, a w jednej dodatkowo autorem korespondencyjnym. Habilitant miał zdecydowanie wiodący wkład w powstawanie tych prac, co zostało nie tylko opisane przez Kandydata, ale również przedstawione przez innych współautorów w załączniku #4. Większość zaprezentowanych publikacji powstała w wyniku współpracy zagranicznej lub krajowej np z Uniwersytetem Tekszańskim w Tyler, Instytutem Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, w Warszawie, Narodowym Instytutem Badań Medycznych w Londynie, czy z Instytutem Biologii Medycznej PAN w Łodzi. Przedstawione do habilitacji publikacje przyniosły znaczący wkład dla poznania fizjologii czy biologii molekularnej prątków. Kandydat spełnia również warunek wykazania się istotną aktywnością naukową w więcej niż jednej uczelni lub jednostce naukowej.

Sumaryczny Impact Factor osiągnięcia naukowego to 33,769 (na podstawie Journal Citation Reports, z 4 sierpnia 2023 r.), a sumaryczna liczba cytowań publikacji osiągnięcia naukowego (bez autocytowań) wynosi 120.

Pozostała działalność naukowa

Habilitant jest współautorem 36 publikacji. Zarówno praca magisterska jak i doktorska zaowocowały dwiema publikacjami. Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitant opublikował aż 27



publikacji (nie licząc 5 wybranych do prezentowanego osiągnięcia). W pracach tych (oprócz jednej z *Cells* z 2021- jeden z pierwszych autorów) jest „środkowym” współautorem. Ilustruje to bogactwo współprac naukowych Habilitanta. Zwraca uwagę brak publikacji z ostatniego okresu, w których Habilitant byłby pierwszym lub korespondującym autorem. Habilitant obecnie jest kierownikiem dwóch grantów: OPUS 17 i SONATA Bis 9. Może szkoda, że nie poczekał ze złożeniem dokumentów habilitacyjnych do momentu opublikowania prac, w których będzie autorem korespondującym. Takie autorstwo byłoby znakomitym argumentem przemawiającym za zdolnością Habilitanta do prowadzenia samodzielnej grupy badawczej.

Pozostałe prace dotyczą różnorodnej tematyki badawczej i świadczą o szerokim horyzoncie zainteresowań Habilitanta. Opublikował jeszcze wiele prac, oprócz tych wybranych do osiągnięcia, w których analizowane są kompleksy białkowe uczestniczące w kluczowych procesach życiowych prątków gruźlicy. Przy użyciu analiz bioinformatycznych badał również ścieżki transdukcji sygnału czy metabolizm kwasów nukleinowych prątków gruźlicy. Ma na swoim koncie wiele współprac naukowych krajowych i zagranicznych, które zaowocowały licznymi publikacjami i realizowanymi projektami badawczymi. Od 2020 roku współpracuje w grupie badawczej Pani prof. dr hab. Magdaleny Mikołajczyk-Chmieli. Projekt dotyczy badań wielofunkcyjnych kompozytów aktywnych biologicznie do zastosowań w medycynie regeneracyjnej układu kostnego. Projekt ten jest realizowany w ramach wielopartnerskiego konsorcjum. Efektem tej współpracy jest bardzo wiele publikacji i patentów. Habilitant jest współautorem 8 publikacji.

Jak już wspomniano, kieruje on dwoma projektami z NCN OPUS i SONATA BIS. Kierował również projektem SONATA (2016-2019) i Grantem Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego-Mobilność Plus III. Brał udział w kilku innych projektach tj. TEAM-NET, POLONIUM, LIDER X, granty NIH, grant Komisji Europejskiej w ramach działania VII Programu Ramowego, nr: FP7- HEALTH 241587 „SystemTB”. Habilitant prezentował osiągnięcia naukowe zarówno w postaci prezentacji ustnych jak i plakatowych na wielu konferencjach. Od 2022 r jest członkiem zespołu redakcyjnego *Molecular Bacterial Pathogenesis (Frontiers in Cellular and Infection Microbiology)*. Recenzował manuskrypty dla *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *Frontiers in Microbiology*, *Nucleic Acids Research* i *Journal of Health Study and Medicine*. Pan dr Przemysław Płociński był kilkakrotnie członkiem zespołu ekspertów Narodowego Centrum Nauki. Opiekował się 3

studentami podczas ich pracy licencjackiej, czterema stażystami, a obecnie pełni funkcję promotora pomocniczego w trzech przewodach doktorskich. Habilitant był zaangażowany w działalność popularyzatorską, jak również poprowadził szereg kursów i szkoleń.

Wniosek końcowy

Przedstawione do oceny publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe stanowią trafny dobór prac o znaczącej wartości naukowej i istotnym wkładzie habilitanta w ich powstanie. Dodatkowo wykazanie się istotną aktywnością naukową w więcej niż jednej uczelni lub jednostce badawczej (odbyte zagraniczne staże i publikacje będące wynikiem współpracy), a także znacząca wartość pozostałych osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych świadczy o istotnym wkładzie habilitanta w rozwój wybranej dyscypliny. Uważam, że zaprezentowany dorobek naukowy odpowiada wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 2018 r. Popieram wniosek o nadanie dr. Przemysławowi Adamowi Płocińskiemu stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Warszawa, 24.02.2024



Prof. dr hab. Iwona J. Fijałkowska

IBB PAN, Warszawa 02-106

Pawińskiego 5A