



Załącznik do: Raportu ds. Nauki i Doktorantów
WPŁYNĘŁO

07. 07. 2022

RND/RDWM-5920-H5/22/9/22

INSTYTUT MEDYCYNY MORSKIEJ I TROPIKALNEJ
ZAKŁAD PARAZYTOLOGII TROPIKALNEJ
ul. Powstania Styczniowego 9B
81-519 Gdynia
tel. +48 58 349-19-45

Gdynia, 21.06. 2022

RECENZJA

Osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej kandydatki do stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne

dr n. biol. ANNY HENRIQUES DOS SANTOS DE SEPULVEDA

Sylwetka Habilitantki

Pani dr n. biol. Anna Henriques dos Santos de Sepulveda jest absolwentką Uniwersytetu Warszawskiego, gdzie na Wydziale Biologii uzyskała w 2005 r. dyplom magistra biologii, a rok później na Wydziale Psychologii dyplom magistra psychologii. Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii molekularnej uzyskała w 2010 r., również na Wydziale Biologii UW, po obronie rozprawy doktorskiej zatytułowanej: „Sieć oddziaływań białek szlaku utleniania Dsb w komórkach *Campylobacter jejuni*”. Od roku 2019 jest zatrudniona w charakterze adiunkta badawczo-dydaktycznego w Zakładzie Biofizyki, Fizjologii i Patofizjologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (WUM). Wcześniej dwukrotnie była zatrudniona na stanowiskach typu podoktorskiego pracownika naukowego, najpierw w Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale w Tuluzie we Francji (2011-2015), a następnie w London School of Hygiene and Tropical Medicine w Londynie w Wielkiej Brytanii (2015-2019). Ponadto, w 2013 r. pracowała jako wizytujący pracownik naukowy na Wydziale Biologii UW oraz jako specjalista w programie Mosar w Narodowym Instytucie Leków w Warszawie.

Ocena osiągnięcia naukowego

W skład osiągnięcia naukowego, które zatytułowano: „Regulacja procesów metabolicznych mykobakterii warunkujących ich wirulencję i stanowiących potencjalny cel ukierunkowanej terapii” wchodzi cztery powiązane tematycznie publikacje, które pochodzą z lat 2018-2021. Zamieszczono je w 4 czasopismach, o punktacji MNiSW od 40 do 100; wszystkie znajdują się liście JRC o IF od 4,546 do 11,147:

- Frontiers in Microbiology (2021: IF 5,640 i 100 pkt. MEiN)
- Nucleic Acids Research (2018: IF 11,147 i 40 pkt. MEiN)
- ACS Chemical Biology (2020: IF 5,100 i 100 pkt. MEiN)
- Toxins (2020: IF 4,546 i 100 pkt. MEiN)

Łączny współczynnik IF prac składających się na osiągnięcie wynosi 26,433, a łączna liczba punktów MEiN wynosi 340. W dwóch pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, a w pozostałych dwóch drugim; w żadnej pracy nie pełni roli autora korespondencyjnego. Procentowy udział Habilitantki w powstaniu artykułów współtworzących osiągnięcie naukowe nie został określony, natomiast dane zawarte w „Wykazie osiągnięć naukowych” wskazują na dominujący udział Habilitantki w ich przygotowaniu, w tym: opracowaniu koncepcji badań, bezpośrednim wykonaniu badań molekularnych i biochemicznych, analizie wyników i pisaniu manuskryptu w przypadku prac eksperymentalnych oraz przygotowaniu koncepcji artykułu, dobraniu literatury i pisaniu manuskryptu w przypadku pracy poglądowej.

Cykl prac składających się na osiągnięcie obejmuje:

1. Grabowska AD, Andreu N, Cortes T. Translation of a Leaderless Reporter Is Robust During Exponential Growth and Well Sustained During Stress Conditions in *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12(746320):1-14.
2. Sawyer E, Grabowska AD, Cortes T. Translational regulation in mycobacteria and its implications for pathogenicity. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(14):6950-6961.
3. Grabowska AD, Brison Y, Maveyraud L, Gavalda S, Faille A, Nahoum V, Bon C, Guilhot C, Pedelacq J, Chalut C, Mourey L. Molecular Basis for Extender Unit Specificity of Mycobacterial Polyketide Synthases. *ACS Chemical Biology*. 2020;15(12):3206-3216.
4. Ariyachaokun K, Grabowska A, Gutierrez C, Neyrolles O. Multi-Stress Induction of the *Mycobacterium tuberculosis* MbcTA Bactericidal Toxin-Antitoxin System. *Toxins*. 2020;12(5):1-14.

Wszystkie prace Habilitantki dotyczą badań nad procesami metabolicznymi prątków gruźlicy *Mycobacterium tuberculosis*, będącej najczęstszą przyczyną gruźlicy płucnej, które mogą warunkować zjadliwość tej bakterii. Należy podkreślić, że badania te, w których Habilitantka skupiła się na charakterystyce wybranych mechanizmów mają potencjał aplikacyjny.

M. tuberculosis, dzięki wykorzystywaniu procesu autoregulacji metabolizmu komórkowego, ma niezwykłą zdolność do przystosowywania się do przetrwania w warunkach stresowych. Spowolnienie podstawowych procesów życiowych, takich jak transkrypcja i translacja, pozwala tej bakterii przetrwać w stanie uśpienia w organizmie zarażonej osoby przez wiele lat. Zrozumienie mechanizmów rządzących zjawiskiem aktywacji i hibernacji procesów życiowych *M. tuberculosis* ma bardzo ważne znaczenie dla rozwoju diagnostyki i terapii zarażeń.

Pierwsza publikacja z cyklu dotyczy badania mechanizmów translacji u *M. tuberculosis* w kontekście efektywności wariantów tego procesu w zależności od panujących warunków wzrostu. Celem Habilitantki było określenie roli translacji bezliderowej w odpowiedzi *M. tuberculosis* na różnego rodzaju warunki stresowe *in vitro*, jak i podczas infekcji. Pomiar luminescencji przygotowanych przez Habilitantkę szczepów repeterowych *M. tuberculosis*, ujawniły, że translacja bezliderowa wykazuje większą odporność na zmiany warunków wzrostu i działanie czynników stresowych (analogicznych do warunków panujących podczas infekcji organizmu ludzkiego) niż translacja kanoniczna. Co za tym idzie, dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda potwierdziła, że centralną rolę w regulacji fizjologii badanej bakterii, wpływającą na zdolności adaptacyjne, odgrywa właśnie translacja bezliderowa. Należy podkreślić, że Habilitantka samodzielnie zaplanowała i wykonała badania oraz przeprowadziła wnikliwą analizę wyników.

Druga publikacja, jest pracą poglądową, w której Habilitantka dokonuje analizy dostępnej literatury na temat wybranych aspektów procesów metabolicznych mykobakterii i ich znaczenia dla wirulencji. W pracy analizowano różnice w procesach translacji u *M. tuberculosis* i *E. coli*, dużo uwagi poświęcając roli translacji bezliderowej w warunkowaniu zdolności *M. tuberculosis* do wejścia w stan uśpienia metabolicznego i wywołania infekcji bezobjawowej u zarażonej osoby. Autorzy przeprowadzili także dyskusję nad potencjalnymi możliwościami wykorzystania wiedzy o mechanizmach regulacji translacji do rozwoju nowoczesnych terapii gruźlicy.

W trzeciej publikacji Habilitantka skupiła się na kolejnym, ważnym aspekcie warunkującym możliwość przeżywania *Mycobacterium tuberculosis* w ludzkim organizmie, jakim jest struktura osłon komórkowych. Pochyliła się nad budową domeny acylotransferowej, będącej ważną podjednostką katalityczną syntaz poliketydów (PKS), biorących udział w syntezie poszczególnych składników osłon komórek mykobakterii. Ważnym osiągnięciem Habilitantki było zbadanie i opisanie trzech nowych struktur krystalicznych domeny acylotransferazy mykobakteryjnych PKS. Przeprowadzone analizy

biochemiczne pozwoliły dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda zidentyfikować reszty aminokwasowe determinujące specyficzność badanej domeny względem podjednostek substratu. Odkrycie to jest ważne poznawczo, ale także ma ważne implikacje praktyczne, biorąc pod uwagę fakt, że rodzaj podjednostki substratu ma przełożenie na strukturę i właściwości ostatecznego produktu. Z pewnością ustalenia Habilitantki mają znaczenie dla rozwoju terapii pacjentów z gruźlicą, ale także w szerszym ujęciu rzuciły nowe światło na budowę i działanie skomplikowanej grupy enzymów jakimi są syntazy poliketydów. Również w tej pracy Habilitantka odegrała decydującą rolę zarówno na etapie projektowania eksperymentów jak i ich przeprowadzenia oraz analizy wyników.

Ostania praca zamykająca cykl składający się na osiągnięcie Habilitantki dotyczy charakterystyki systemu toksyna-antytoksyna (TA) MbcTA i identyfikacji czynników pobudzających aktywność tego systemu w komórkach *M. tuberculosis*. Jest to system regulujący możliwość przechodzenia bakterii ze stanu aktywnego metabolicznie do stanu uśpienia w momencie oddziaływania niekorzystnych warunków zewnętrznych. Dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda, wraz zespołem, wykorzystując narzędzia biologii molekularnej i bioinżynierii, badała ekspresję operonu mbcAT w środowisku zmieniających się czynników zewnętrznych. Dzięki tym badaniom poznano m.in. zjawiska autoregulacji w ekspresji operonu mbcAT. Zespół scharakteryzował promotor operonu mbcA, oraz mechanizmy regulacji transkrypcji operonu mbcAT zależnej od promotora PmbcA w różnych warunkach stresowych. Wyniki badań są o tyle ważne i cenne, że z dużym prawdopodobieństwem zostaną wykorzystane w opracowaniu nowoczesnych metod terapii gruźlicy i innych chorób infekcyjnych. Mimo, że dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda jest w opisywanej pracy drugim autorem, to, jak wynika z Jej Autoreferatu, miała w niej duży udział współtworząc koncepcję projektu, opracowując metodykę badań, przeprowadzając szereg eksperymentów i analizując uzyskane dane.

W mojej ocenie cykl wytypowanych przez dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda do osiągnięcia naukowego prac przynosi szereg wartościowych wyników dotyczących poznawania procesów metabolicznych prątków gruźlicy. Niezwykle istotny i cenny jest charakter aplikacyjny badań Habilitantki, które mogą mieć duże znaczenie w opracowywaniu nowoczesnych, celowanych terapii u pacjentów chorujących na gruźlicę. Na szczególne uznanie zasługuje także niezwykle bogaty warsztat naukowy Habilitantki, w tym znajomość wielu technik biologii molekularnej i inżynierii genetycznej.

Ocena aktywności naukowej

Jak wynika z *Autoreferatu* dr Anny Henriques dos Santos de Sepulveda oraz zestawienia opracowanego przez Bibliotekę WUM, do czasu uzyskania stopnia naukowego doktora, była współautorem 5 publikacji o charakterze pogładowym. Jeden artykuł opublikowano w czasopiśmie z listy JRC (IF 3,570, punktacja MEiN 32 pkt.). Pozostałe 4 prace opublikowano w czasopiśmie spoza bazy JRC, o łącznej punktacji MEiN 64; w tym 2 artykuły w czasopiśmie z listy B z punktacją MEiN równą co najmniej 10 pkt.; Habilitantka była pierwszym autorem w jednej z prac.

Od uzyskania stopnia doktora, czyli w ciągu 12 lat, Habilitantka powiększyła znacznie dorobek naukowy, publikując 13 prac pełnotekstowych oryginalnych i pogładowych oraz listów do redakcji w czasopiśmie indeksowanych w JRC (Σ IF 69,5 oraz pkt. 930 MEiN) oraz 1 pracę oryginalną pełnotekstową w periodykach spoza bazy JRC (bez IF), która znajduje się w wykazie B czasopiśmie punktowanych przez Ministerstwo Edukacji i Nauki (40 pkt. MEiN), co daje razem 14 artykułów o łącznej punktacji MEiN wynoszącej 970. Zatem, rocznie, we wspomnianym 12 letnim okresie, publikowała ~ 1,16 rocznie wysokopunktowanych prac, co jest dobrym wynikiem.

Na całkowity dorobek naukowy Habilitantki (obejmujący wszystkie prace zamieszczone w punktowanych czasopiśmie z list A i B MEiN w latach 2004 – 2022) składa się 14 artykułów zamieszczonych w czasopiśmie z bazy JRC (Σ IF 73,070, pkt. MEiN 962) oraz 5 prac opublikowanych w periodykach z wykazu B MNiE (Σ pkt. MEiN 72). Spośród 14 artykułów, które ukazały się w periodykach z IF Habilitantka w 5 była pierwszym autorem; spośród pozostałych opublikowanych prac jest ona pierwszym autorem w 1 artykule o punktacji MEiN 1 pkt. Habilitantka popularyzowała i prezentowała tematykę i wyniki badań, w których uczestniczyła, na krajowych i międzynarodowych zjazdach i konferencjach oraz zebraniach naukowych. Jest autorką/współautorką 20 doniesień zjazdowych, w 12 z nich jest pierwszym autorem, a 4 prezentowała ustnie na konferencjach międzynarodowych. Wartości dwóch wskaźników bibliometrycznych, tzn. indeks Hirscha oraz liczby cytowań (bez autocytowań) są dobre i wynoszą wg bazy Web of Science odpowiednio: 8 i 192, a wg bazy Scopus 9 i 205.

W okresie zatrudnienia w różnych instytucjach naukowych w kraju i zagranicą dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda, jako członek zespołów badawczych, prowadziła badania dotyczące głównie *Campylobacter jejuni* oraz *Mycobacterium tuberculosis*. W sumie, dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda brała udział w 7 projektach naukowych. Wykonawcą była w 4 grantach finansowanych ze źródeł zewnętrznych, w tym 3

realizowanych po doktoracie: projekt finansowany przez ERC pt.: „Translation regulation in the persistence and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*”(2015-2019), projekt finansowany przez francuską Agence Nationale de la Recherche (ANR) pt.: „Deciphering the molecular programming of polyketide synthases from pathogenic mycobacteria” (2011-2012), projekt „MOSAR (ang. Mastering hOSpital Acquired Resistance) koordynowany przez francuski Inserm (Narodowy Instytut Zdrowia i Badań Naukowych) (2010-2011). Kierownikiem była natomiast w jednym grantie wykonywanym po doktoracie finansowanym przez francuską ANR pt.: „Evolutionary portrait of a pathogen: horizontal gene transfer and genomic reprogramming in *Mycobacterium tuberculosis*” (2013-2015) oraz w dwóch projektach przed doktoratem finansowanych ze środków MNiSW tj. w grantie doktorskim pt.: „Charakterystyka transkrypcyjna i translacyjna genów dsb fałdowania oksydacyjnego w komórkach *Campylobacter jejuni*” (2008 – 2010) oraz w grantie wewnętrznym UW pt.: „Rozwiązanie struktury białka DsbI *Campylobacter jejuni* – przygotowanie preparatu do badań krystalograficznych”(2006-2009). Świadczy to o bardzo dobrej aktywności Kandydatki w staraniach o finansowanie badań i ich realizacji.

Za pracę naukową Habilitantka była kilkakrotnie wyróżniana. Na szczególną uwagę zasługuje tutaj Nagroda Ministra Edukacji Narodowej i Sportu za całokształt osiągnięć naukowych podczas studiów na Uniwersytecie Warszawskim (2005), Stypendium stażowe Federation of European Microbiological Societies (FEMS) podczas realizacji projektu doktorskiego (2008) oraz 1-sza Nagroda Naukowa Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów im. prof. Mikulaszka za pracę eksperymentalną młodego naukowca w dziedzinie mikrobiologii/bakteriologii i biochemii.

dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda odbyła 4 staże zagraniczne, w tym 2 staże podoktorskie: w London School of Hygiene and Tropical Medicine (LSHTM), Wielka Brytania (2015-2019) oraz w Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS), Tuluza, Francja (2011-2015) i 2 staże przed uzyskaniem stopnia doktora: w Université de la Méditerranée, Marsylia, Francja (2008) oraz Uniwersytet Alcalá de Henares, Madryt, Hiszpania (2003/2004). Ponadto, Kandydatka zdobywała także doświadczenie naukowe na stażach krajowych: w GfK Polonia sp. z o.o., Warszawa, Instytucie Matki i Dziecka (IMiD), Warszawa (2005), Instytucie Żywności i Żywnienia (IŻŻ) (2004), Warszawa, Narodowym Instytucie Leków (NIL), Warszawa (2003).

Aktywność Kandydatki w obszarze naukowym i współpracy zagranicznej zasługuje na szczególną uwagę.

Ocena działalności dydaktycznej i popularyzatorskiej

Jako nauczyciel akademicki zatrudniony w Zakładzie Biofizyki, Fizjologii i Patofizjologii WUM dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda prowadzi zajęcia z zakresu biofizyki oraz fizjologii i patofizjologii dla studentów kilku kierunków (lekarski, położnictwo, pielęgniarstwo, ratownictwo medyczne, zdrowie publiczne) na Wydziale Lekarskim oraz Wydziale Nauk o Zdrowiu WUM.

W latach 2009-2019 Habilitantka sprawowała opiekę merytoryczną łącznie nad 15 magistrantami i 5 licencjantami odbywającymi krótko i długoterminowe staże w różnych instytucjach, w tym: nad 3 studentami w London School of Hygiene and Tropical Medicine (LSHTM) (Wielka Brytania), 4 studentami w Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS) (Francja), 3 studentami w Narodowym Instytucie Leków w Warszawie oraz 10 studentami na Wydziale Biologii UW.

Doświadczenie naukowe oraz zaangażowanie w popularyzowanie nauki łączą się z przynależnością Habilitantki do towarzystw naukowych: Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów i Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (od 2008 r.).

Wnioski końcowe

Na podstawie oceny przedstawionego osiągnięcia naukowego pt. „Regulacja procesów metabolicznych mykobakterii warunkujących ich wirulencję i stanowiących potencjalny cel ukierunkowanej terapii” oraz całościowej oceny działalności naukowej, dorobku dydaktycznego oraz popularyzatorskiego, dokonanej na podstawie przedstawionych dokumentów, stwierdzam, że dr Anna Henriques dos Santos de Sepulveda spełnia wymagania stawiane kandydatom w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego określone w stosownych aktach prawnych (art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce; Dz.U. z 2018 r. z późn. zm.), jako wymagania dla osoby ubiegającej się o stopień naukowy doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

W związku z powyższym, zwracam się z wnioskiem do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Habilitantki do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

dr hab./ni med. Anna Lass
.....prof. uczelni.....
Kierownik Zakładu Parazytologii Tropikalnej
oraz Katedry Medycyny Morskiej i Tropikalnej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego