Warszawa, 10.10.2022 r.

Prof. dr hab. Aleksandra Misicka-Kęsik
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

mail: misicka@chem.uw.edu.pl

Recenzja osiągnięcia naukowego pt.

„Chemia medyczna związków o potencjale przeciwnowotworowym celujących w system ubikwitynacji i immunologiczne punkty kontrolne" oraz całokształtu dorobku naukowego dr. Łukasza Skalniaka w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.

1. Informacje podstawowe

Dr Łukasz Skalniak uzyskał stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w 2013 r. na podstawie rozprawy doktorskiej wykonanej w ramach studium doktoranckiego pt. *„MCPIP1 contributes to MG-132 toxicity by the inhibition of constitutive NF-κB".* Promotorem pracy doktorskiej była dr hab. Jolanta Jura, prof. UJ.

Po uzyskaniu stopnia doktora dr Skalniak był zatrudniany kolejno w kilku Zakładach różnych wydziałów UJ, w tym na etacie samodzielnego biologa w Zakładzie Biochemii Komórki, asystenta w Zakładzie Biochemii Ogólnej na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, a następnie na etacie samodzielnego chemika, asystenta naukowego i adiunkta (od 10.2017 r.) w Zakładzie Chemii Organicznej na Wydziale Chemii.

2. Ocena dorobku naukowego

Zainteresowania dr. Skalniaka są związane z tematyką dotyczącą poszukiwania inhibitorów białek pod kątem możliwości wykorzystania ich w terapii przeciwnowotworowej. W swojej pracy naukowej skupia się na testowaniu aktywności i optymalizacji struktur chemicznych nowych, bioaktywnych związków organicznych, zaprojektowanych w celu blokowania białek zaangażowanych w nowotworzenie, w szczególności białek MDM2/p53, USP2 i PD-1/PD-L1.

Dr Łukasz Skalniak jest współautorem 26 publikacji (z bazy WoS), z czego 18 prac ukazało się po uzyskaniu stopnia doktora. Sumaryczny impakt faktor (IF) prac wykonanych przez habilitanta przed doktoratem wynosi ok. 135,6, a po doktoracie 93,4. Sumaryczna liczba cytowań jego prac wynosi 556 (521 z wyłączeniem autocytowań). Indeks Hirscha dr. Skalniaka wynosi 11 (dane na dzień złożenia wniosku). Wszystkie te prace zostały opublikowane w bardzo dobrych anglojęzycznych międzynarodowych specjalistycznych czasopismach naukowych. Wśród czasopism znalazły się: *FEBS J, J Med Chem, Eur J Med*

Chem, Angew Chem Int Ed Engl, Oncotarget. Molecules, Nucleic Acid (średnia wartość IF czasopism wynosi 5,4). Dr Skalniak jest również współtwórcą 2 zgłoszeń patentowych.

Dr Skalniak jest ponadto (w okresie po doktoracie) współautorem 2 konferencyjnych posterów i 1 wykładu konferencyjnego na Congress Bio2018 (Gdańsk). Z załączonego spisu wynika, że był on zdecydowanie bardziej aktywny konferencyjnie przez uzyskaniem stopnia doktora (2 wystąpienia ustne i 8 plakatów na konferencjach i szkołach w Polsce).

Dr Skalniak zaczął uczestniczyć w wykonywaniu grantów już podczas studiów doktoranckich. W tym okresie mgr Skalniak brał udział jako wykonawca w:

- 2 grantach Unijnych (FP-6, MTKD-CT-2006-042586J; (ACUP): *Functional analysis of new acute phase proteins* i LSHM-CT-2006-036903 (STREP-Savebeta): *Molecular pathways underlying decreased beta cell mass in diabetes mellitus)*, których koordynatorem była dr hab. Jolanta Jura, promotor jego pracy doktorskiej.

- 2 grantach ministerialnych (MNiSW) - 63/6PR-UE/2007/7: *Functional analysis of novel acute phase proteins* i 339/6PR-UE/2007/7: *Molecular pathway engaged in beta cells apoptosis,* których kierownikiem była również dr hab. Jolanta Jura.

W wykazie osiągnięć przedstawionych przez dr. Skalniaka wskazane są również inne granty krajowe z późniejszego okresu, w których był wykonawcą i z których była m. in. finansowana większość publikacji zgłoszona do osiągnięcia habilitacyjnego. Ale w przeciwieństwie do powyżej wymienionych grantów, dla których habilitant załączył stosowne oświadczenie kierownika grantu, w poniższych grantach takiego oświadczenia brakuje, a więc nie wiadomo kto był kierownikiem tych grantów.
- 2015-2017 – SYMFONIA, 2014/12/W/NZ1/00457 – *Transient protein states in designing small-molecule inhibitors of protein-protein interactions*.
- 2013-2017 – MAESTRO 3, 2012/06/A/ST5/00224 – *Characterization of CD44/p53 signalling involved in the CD44-dependent cancer stem cells: small-molecules and peptides, their conjugates, off-target binding, and structures of CD44 and Stab2.*
- 2013-2015 – TEAM/2011-8/2 – *Targeting the ubiquitin-proteasome system and ubiquitinlike protein conjugation pathways for non-genotoxic therapy of cancer*.
- 2010–2013 – 776/N- COST/2010/0 – *Białko MCPIP w regulacji różnicowania i procesów zapalnych keratynocytów.*

Oprócz prowadzenia badań jako wykonawca w grantach kierowanych przez innych naukowców, dr Skalniak był kierownikiem 2 grantów NCN: Preludium (2012-2014) i SONATY (2017-2020), co umożliwiło mu częściowe finansowanie badań, których wyniki są zamieszczone w publikacjach zgłoszonych do osiągniecia habilitacyjnego.

Habilitant we wniosku wskazał na prowadzone od 2013 r. współprace naukowe z 1) prof. Alexandrem Dömlingiem z Uniwersytetu w Groningen, Holandia i 2) dr. Gregorem Popowiczem z Centrum Helmholtz w Monachium, Niemcy. Wykazana jest również współpraca habilitanta w ramach programu COST, w którym jest zaangażowanych wiele instytucji co daje niezwykle dużo możliwości odbycia stażu naukowego. Szkoda, że dr Skalniak z tych możliwości nie skorzystał, aby odbyć podoktorski staż naukowy.

Podsumowując, aktywność naukowa dr. Łukasza Skalniaka jest znacząca. Dobre przygotowanie do prac badawczych podczas studiów doktoranckich dało podstawy do dużej aktywności w wykonywaniu i kierowaniu grantami oraz publikowania otrzymanych wyników. Zarówno liczba publikacji i impakt faktory czasopism, w których dr Skalniak publikuje świadczą, że jest on bardzo aktywnym badaczem na polu badań związanych z opracowaniem terapii przeciwnowotworowych.

Dr Skalniak za swoje osiągnięcia naukowe był już kilkakrotnie nagradzany, począwszy od jego okresu doktoranckiego (stypendium dla najlepszych doktorantów WBBiB UJ, stypendium z Małopolskiego Centrum Przedsiębiorczości, laureatem programu Młodych Naukowców (YSP)), aby w następnym okresie swojego rozwoju naukowego być laureatem programu START FNP, 2-krotnie laureatem Zespołowej Nagrody Naukowej Rektora UJ i zespołowej nagrody Miasta Krakowa, jak również być członkiem zespołu, który otrzymał wyróżnienie Wydziału II Nauk Biologicznych i Rolniczych PAN.

Niestety brakuje w karierze naukowej dr Skalniaka długoterminowego stażu naukowego po uzyskaniu stopnia doktora, tak bardzo potrzebnego do rozwoju naukowego każdego młodego doktora. Bo przecież nie można do tej kategorii zaliczyć licznych kilkudniowych szkoleń lub wyjazdu podczas studiów w ramach programu Sokrates/Erasmus, które wskazuje habilitant w pkt. 6 swojego wniosku (Informacja o odbytych stażach).

3. Ocena osiągnięcia naukowego - cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych

Jako podstawę postępowania habilitacyjnego dr Skalniak przedstawił 10 prac, opublikowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym w okresie 2017-2019. Impakt faktor prac zaliczonych do cyklu habilitacyjnego wynosi około 60,9 i publikacje te były cytowane 219 razy. Są to współautorskie (od 3 do 15 autorów) prace opublikowane w J Med. Chem, FEBS J, Cancers, Eur J Med Chem, Cell Chem Biol, Oncotarget, Angew Chem Int Ed Engl i Expert Opinion on Therapeutic Patents.

Dr Skalniak jest autorem korespondującym w 6 publikacjach (w tym w 1 pracy autorem korespondujacym jest również prof. Holak, a w 1 autorami korespondującymi są prof. Holak i prof. Dömling), a w 4 publikacjach jest pierwszym autorem.

Wszystkie publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego są w bardzo znaczących czasopismach, a zatem zostały pozytywnie ocenione przez recenzentów, dlatego ograniczę się tylko do ich krótkiego podsumowania.

Tematykę publikacji dr. Skalniaka wchodzących w cykl prac osiągnięcia można podzielić na 3 kierunki:

1. Badania antagonistów oddziaływania białek p53/ MDM2,
2. Badania antagonistów oddziaływania białek USP2 - cyklina D1,
3. Badania antagonistów oddziaływania białek PD-1/PD-L1.

Ad. 1. Białko MDM2 pełni niezwykle ważną rolę w inaktywacji białka p53, jednego z głównych supresorów rozwoju nowotworów. Dlatego też opracowanie skutecznych inhibitorów oddziaływania p53/MDM2 może mieć duże znaczenie terapeutyczne i w przyszłości zapewnić skuteczna terapię przeciwnowotworową.

Pięć z przedstawionych do osiągnięcia prac dr. Skalniaka jest związanych z tą niezwykle interesującą tematyką (prace **H1-H4, H9**).

W pracy **H9** były badane były związki z grupy imidazoli i α-aminoacyloamidów, których synteza była prowadzona (metodą reakcji wieloskładnikowych) zapewne głównie w grupie prof. Dömlinga (ale habilitant wyraźnie tego nie podaje), natomiast dr. Skalniak testował ich potencjał terapeutyczny jako antagonistów białka MDM2. Publikacja ta jest kontynuacją wcześniejszych badań powstałych we współpracy prof. Dömlinga i prof. Holaka. Kontynuowanie tej współpracy pozwoliło na opracowanie i charakteryzację nowej grupy antagonistów MDM2 i wykazanie ich własności inhibitorowych. W pracy tej pokazano też analogi, zdolne do przyłączenia do nośników biologicznych w celu polepszenia ich własności farmakodynamicznych. W sumie jest to niezwykle interesująca, bardzo szeroka praca, powstała w wyniku współpracy kilku ośrodków naukowych, a pokazane badania były współfinansowane przez granty uzyskane przez wiele autorów, w tym dr. Skalniaka.

W pracy **H2** przebadano trifluoropochodne najlepszych z wcześniej otrzymanej serii α-aminoacyloamidów. Okazało się, że w wyniku badań SAR otrzymano związek o bardzo dobrej aktywności w modelu komórkowym, wykazano również, że za aktywność biologiczną jest odpowiedzialny enancjomer R. W tej pracy, oprócz dr. Skalniaka autorami korespondencyjnymi byli też prof. Dömling i prof. Holak, co zostało pominięte w wykazie we wniosku.

Bardzo ciekawe wyniki badań dr. Skalniaka są przedstawione w pracy **H4**, w której przebadano znany inhibitor MDM2 idasanutlinę pod kątem mechanizmu powstawania lekooporności. W tej pracy dr. Skalniak jest pierwszym i korespondującym autorem, wskazał również w tekście publikacji siebie jako inicjatora tych badań (conceptualization). Wyniki badań wskazały, że byłoby korzystne wraz ze stosowaniem antagonistów MDM2 dodatkowe podawanie związków przeciwnowotworowych innego typu. To zainicjowało wieloautorską (6 autorów) publikację **H1**, dotyczącą postępów w strategiach leczenia nowotworów z użyciem antagonistów MDM2 z równoczesnym podaniem innych związków przeciwnowotworowych.

Natomiast praca **H3** jest przeglądem patentów (3 autorów, 2 zaznaczonych z równoważnym udziałem, w tym dr Skalniak) z lat 2014-2017 dotyczących antagonistów MDM2. Przegląd patentów był napisany na zaproszenie edytora, co napisał habilitant w swoim wniosku, ale pewnie zaproszenie było dla prof. Holaka. Wydaje się, że autor niepotrzebnie dołączył tę publikację w do cyklu prac swojego osiągniecia naukowego.

Ad. 2. Białko USP2 jest zaangażowane w procesy nowotworzenia przez stabilizację cykliny D1, kluczowego regulatora cyklu komórkowego. Praca **H10** przedstawia badania nad poszukiwaniem antagonistów oddziaływania USP2/cyklina D1 w której wykazano, że hydroksyamid kwasu litocholowego jest skutecznym inhibitorem białka USP, jak również, że związek ten nie jest selektywny wobec USP2, lecz oddziałuje także z innymi białkami rodziny

USP. W celu wykonania tego fragmentu badań dr Skalniak nawiązał współpracę z dr. Mathiasem Trostem, zajmującym się wówczas na Uniwersytecie w Dundee profilowaniem aktywności związków względem panelu białek deubikwitynujących.

Dr Skalniak wziął również udział w poszukiwaniu nowych inhibitorów białka USP2 poprzez badania przesiewowe z zastosowaniem techniki STD NMR przeprowadzone w Centrum im. Helmholtza w Monachium (praca **H5**). W wyniku tych badań opracowano nowe inhibitory białka USP2, o innej strukturze wiodącej, która zapewne będzie dalej optymalizowana. W tej pracy dr. Skalniak nie jest ani autorem pierwszym, ani korespondującym.

Ad 3. W zakresie projektowania inhibitorów jednego z systemów kontroli immunologicznej PD-1/PD-L1 dr Skalniak włączył do swojego osiągnięcia habilitacyjnego 3 prace. W pracy **H8** scharakteryzowano strukturalnie metodą NMR i zanalizowano struktury krystalograficzne kompleksów małocząsteczkowych związków bifenylowych opracowanych jako inhibitory układu PD-1/PD-L1, w firmie Bristol-Myers-Squibb (BMS), z białkiem PD-L1. W tej pracy dr Skalniak jest jednym z 15 współautorów.

W pracy **H7** rozwijano tę tematykę projektując i badając pochodne związków opracowanych przez firmę BMS. Otrzymane struktury krystalograficzne kompleksów białek z opracowanymi inhibitorami mogą stanowić punkt wyjścia do projektowania nowych inhibitorów układu PD-1/PD-L1. W tej pracy dr Skalniak jest zarówno pierwszym, jak i autorem korespondującym.

Trzecia praca **H6** z tej tematyki dotyczy badań peptydów makrocyklicznych jako inhibitorów białek PD-1 i PD-L1. Dr Skalniak jest jednym z 14 współautorów tej publikacji.

Podsumowując, omówione powyżej prace dr. Łukasza Skalniaka przedstawione jako osiągnięcie naukowe w celu uzyskania stopnia doktora habilitowanego wniosły niezwykle ważny wkład w projektowanie potencjalnych leków przeciwnowotworowych o pożądanych właściwościach. Wszystkie prace dotyczą niezwykle aktualnej tematyki, dostarczając nowe informacje o badanych inhibitorach, blokujących kluczowe w nowotworzeniu białka.

Niestety brakuje mi wyraźnego wskazania jakie badania zainicjował habilitant. Wszystkie publikacje są wieloautorskie, finansowane przez różnych współautorów, trudno jest więc wyłowić faktyczny udział dr. Skalniaka. Szkoda, że w przedstawionym autoreferacie habilitant wyraźnie nie wydzielił swoich pomysłów i ich realizacji.

Charakterystyka dorobku dydaktycznego

Dr Skalniak jest pracownikiem dydaktycznym na Wydziale Chemii UJ, co oczywiście jest związane z prowadzeniem licznych zajęć dydaktycznych, zarówno wykładów, jak i ćwiczeń laboratoryjnych. Dr Skalniak jest koordynatorem nowych zajęć, wprowadzonych przez niego i prowadzonych od 2019 r. na Wydziale Chemii UJ, jak również prowadzi wykłady kursowe, konwersatoria i związane w nimi laboratoria. Dr Skalniak brał już aktywny udział w procesie dydaktycznym (laboratoria związane z Biologią Molekularną) podczas swoich studiów doktoranckich na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ.

Dr Skalniak był promotorem 11 prac licencjackich i 3 prac magisterskich zrealizowanych na Wydziale Chemii UJ. W swoim wniosku wskazuje również na pełnienie przez siebie opieki merytorycznej nad 3 doktorantami (od 2017 lub 2018 r.), jednak nie podaje ani tematów poszczególnych prac, ani ich promotora/promotorów, zapewne nie był także ich promotorem pomocniczym.

Wniosek końcowy

Dorobek naukowy dr. Łukasza Skalniaka: liczba publikacji, jakość czasopism, w których publikuje, umiejętność zdobywania grantów, świadczą o znaczącym dorobku naukowym spełniającym wymagania stawiane awansom habilitacyjnym.

Jednak przed podjęciem ostatecznej decyzji dotyczącej wniosku o nadanie dr. Skalniakowi stopnia doktora habilitowanego konieczne jest wyjaśnienie poniższych kwestii:

1. Wyraźne wskazanie badań, które zostały zainicjowane i kierowane przez habilitanta,
2. Wyjaśnienie braku odbycia stażu naukowego w innym ośrodku naukowym, wymaganego przez Ustawę.

A. Mistela