

dr hab. Ewelina Król, prof. UG
Zakład Szczepionek Rekombinowanych
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii
Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ewelina.krol@biotech.ug.edu.pl

Gdańsk, 20.11.2023 r.

Recenzja osiągnięć naukowych Pani dr Anny Kuli-Pācurar w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne

Otrzymane materiały stanowiące dokumenty w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego zostały przygotowane według formalnych wymogów umożliwiających przygotowane oceny. Dokumentacja została przygotowana starannie i jest wyczerpująca. Zawiera informacje o przebiegu kariery naukowej, omówienie osiągnięć naukowych, opis aktywności naukowych realizowanych w więcej niż jednej uczelni, opis współprac badawczych z innymi jednostkami naukowymi, informacje o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę, a także opis projektów badawczych, w których Habilitantka brała lub bierze udział jak i opis planów badawczych. Dokumentacja zawiera również wykaz wszystkich osiągnięć naukowych, oświadczenia współautorów publikacji wykazanych jako główne osiągnięcie naukowe jak i kopie tych publikacji.

Pani dr Anna Kula-Pācurar ukończyła studia magisterskie na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w 2005 roku. Pracę magisterską ze specjalizacji Biologia Molekularna realizowała pod opieką prof. dr hab. Michała Obuchowskiego oraz prof. dr hab. Grzegorza Węgrzyna. Studia doktoranckie odbyła w

Międzynarodowym Centrum Inżynierii Genetycznej i Biotechnologii (ICGEB) w Trieście pod opieką prof. Alessandro Marcello. W 2009 roku uzyskała stopień naukowy doktora na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Identification and characterization of protein complexes involved in HIV-1 RNA biogenesis, processing and export”. Po uzyskaniu stopnia doktora pracowała przez dwa lata jako post-doc w tej samej jednostce dzięki uzyskaniu stypendium Marie Curie. Następnie odbyła kolejny czteroletni staż podoktorski w Instytucie Biologii Molekularnej i Medycznej w Gosselies Wolnego Uniwersytetu Brukselskiego w Belgii w zespole prof. Carine Van Lint. Ma za sobą również dwa krótkie staże naukowe w Szpitalu Necker w Paryżu oraz w Akademickim Centrum Medycznym w Amsterdamie, gdzie uzyskała doświadczenie w zakresie ultraczułych technik oznaczania wirusowego RNA w komórkach od pacjentów. Badania prowadzone podczas odbytych staży naukowych stały się podstawą publikacji naukowych wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego. Po 14 latach pobytu za granicą Habilitantka wróciła do Polski. Od 2017 roku zatrudniona jest w Małopolskim Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Od 2017 do 2019 roku była zatrudniona na stanowisku asystenta i pełniła również funkcję kierownika grantu w ramach projektu Polonez Cofund finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki i Unię Europejską, a od 2019 roku zatrudniona jest na stanowisku adiunkta.

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako główne osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego dr Anna Kula-Păcurar wskazała cykl 6 publikacji pod zbiorczym tytułem „Charakterystyka mechanizmów molekularnych replikacji ludzkiego wirusa niedoboru odporności w poszukiwaniu nowatorskich podejść terapeutycznych” opublikowanych w latach 2011-2021. Wszystkie prace są spójne tematycznie i powiązane bezpośrednio z przedstawionym osiągnięciem naukowym. Prace pokazują kompleksowość komórkowych i wirusowych mechanizmów molekularnych kontrolujących ekspresję genów wirusa niedoboru odporności (HIV-1). Niewątpliwie uzyskane wyniki przyczyniły się do głębszego zrozumienia procesu replikacji wirusa, co może mieć ogromne znaczenie dla poszukiwania nowych podejść terapeutycznych w

przyszłości. Cztery prace mają charakter eksperymentalny, a dwie są pracami przeglądowymi podsumowującymi aktualny stan wiedzy. We wszystkich pracach dr Kula-Pācurar jest pierwszym autorem (w tym w dwóch pierwszym równorzędnym), a w jednej również autorem korespondencyjnym. Udział dr Kula-Pācurar w powstanie prac został szczegółowo opisany, a jej wkład został udokumentowany przedstawionymi oświadczeniami. W większości polegał na opracowaniu hipotezy badawczej, planowaniu doświadczeń oraz ich wykonaniu, analizie i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptów i odpowiedzi dla recenzentów. Udział kandydatki w powstawaniu wszystkich prac był bez wątpienia wiodący.

Pierwsza praca (Kula A. i inni, *Retrovirology* 2011) dotyczyła identyfikacji białka jądrowego MATR3 jako nowego kofaktora białka regulatorowego Rev, które odpowiada za transport transkryptów wirusowych z jądra do cytoplazmy. Identyfikacji dokonano przy zastosowaniu spektrometrii mas stosując metodę znakowania wirusowego RNA. Rola MATR3 w replikacji RNA wirusa HIV-1 nie była wcześniej poznana. W przedstawionej pracy nie tylko potwierdzono wiązanie białka MATR3 do wirusowego RNA, ale także zbadano jego rolę w regulacji RNA wskazując udział tego białka w ekspresji Rev-zależnych transkryptów stosując szereg zaawansowanych technik badawczych.

Praca Kula A i inni, *Virology* 2013 była tematycznie bardzo związana z pracą pierwszą i dotyczyła identyfikacji białka komórkowego PSF jako kompleksu z białkiem MATR3 i Rev. Wiadomo było, że jądrowe białko PSF bierze udział w różnych procesach jądrowych, ale jego rola w ekspresji genów wirusa HIV nie była dotąd poznana. Dzięki użytej metodologii wykazano, że zidentyfikowane białko PSF nie uczestniczy bezpośrednio w transkrypcji, ale reguluje obróbkę wirusowego RNA w Rev-zależnym eksporcie. Ponadto dzięki uzyskanym wynikom autorka zaproponowała nowy model regulacji pre-mRNA przez zidentyfikowane białka MATR3 i PSF nie opisany jak dotąd w literaturze. Jest to niezmiernie istotne, gdyż oba zidentyfikowane białka mogą stanowić nowy cel terapeutyczny w przyszłości.

Trzecia praca z głównego osiągnięcia naukowego (Darcis G, Kula A i inni, *PLoS Pathog.* 2015) dotyczyła badania związków chemicznych należących do tzw. „latency reactivating agents, LRAs”, które to uwalniają mechanizmy molekularne blokujące transkrypcję genów wirusowych i

przyczyniają się do reaktywacji wirusa HIV-1 z latentnie zakażonych komórek. Jest to element strategii mającej na celu eliminację latentnych rezerwuarów wirusowych tzw. strategii „shock-and-kill”. W pracy badano różne klasy związków LRA co pozwoliło na identyfikację kombinacji dwóch klas LRA, agonistów kinazy białkowej C (PKC) z aktywatorami czynnika elongacji transkrypcji P-TEFb (JQ1+briostatyna-1) oraz ich udziału w reaktywacji z latencji nie tylko w hodowlach komórkowych *in vitro*, ale również w hodowlach *ex vivo* komórek od pacjentów. Autorka scharakteryzowała mechanizm synergistycznej reaktywacji polegający na zwiększonym uwolnieniu aktywnego P-TEFb oraz NF- κ B. Co istotne autorka po raz kolejny zidentyfikowała nową, potencjalną opcję terapeutyczną w leczeniu zakażeń spowodowanych przez ludzkiego wirusa niedoboru odporności.

W kolejnej pracy doświadczalnej ujętej w cyklu (Kula A i inni, J Acquir Immune Defic Syndr. 2019) badano aktywność kolejnych klas LRAs w procesie wybudzenia z latencji wirusa HIV-1. W badaniach autorka wykorzystwała dwa związki zatwierdzone już przez Agencję Żywności i Leków, disulfiram oraz romidepsynę i sprawdzała ich skojarzoną aktywność zarówno w badaniach *in vitro* jak i *ex vivo* wykorzystując szereg technik badawczych. Najistotniejszym wynikiem było wykazanie, że niestety pomimo potwierdzonej w przeszłości aktywności tych związków w reaktywacji latencji w monoterapii, skojarzone podanie kombinacji obu związków w hodowlach *ex vivo* nie przynosi zadawalających efektów, co niestety eliminuje je jako potencjalne leki w przyszłych badaniach klinicznych.

W opisanym osiągnięciu znalazły się również dwie prace przeglądowe. W pierwszej z nich (Ait-Ammar A, Kula A i inni, Front Microbiol. 2020) Habilitantka przedstawiła obecny stan wiedzy na temat reaktywacji wirusa ze stanu latencji przy zastosowaniu różnych klas LRA i ich kombinacji. W drugiej pracy (Kula-Pacurar A i inni, Semin Immunol. 2021) autorka skupiła się na tym samym zagadnieniu, lecz przy wykorzystaniu immunostymulujących LRA, które posiadają podwójny mechanizm działania, zarówno reaktywacyjny jak i stymulujący odpowiedź przeciwwirusową, również w kombinacji z klasycznymi LRA.

Podsumowując przedstawiony zestaw prac jest ciekawy, ma dużą oryginalność oraz wartość merytoryczną. Bez wątpienia osiągnięcie stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny

naukowej. Wyniki badań dr Anny Kuli-Pācurar poszerzają w istotny sposób naszą wiedzę na temat mechanizmów replikacji wirusa HIV-1, a zastosowana metodologia może być wykorzystana w trakcie innych projektów naukowych o podobnej tematyce. Badania Habilitantki nie tylko dostarczyły cennych informacji o mechanizmach komórkowych biorących udział w tym procesie jak i mechanizmach latencji, ale co najważniejsze mogą mieć znaczenie w przyszłości przy opracowaniu nowych podejść terapeutycznych w leczeniu zakażeń spowodowanych HIV-1.

Ocena aktywności naukowej

Analizując pozostały dorobek naukowy Habilitantki można stwierdzić, że włącza się ona bardzo aktywnie w prace zespołów, do których należy. Jej aktywny udział w projektach badawczych oraz rozwijanie współpracy międzynarodowej zaowocowały kilkunastoma publikacjami naukowymi w prestiżowych czasopismach naukowych z listy filadelfijskiej, w tym w uznanych czasopismach o dużej renomie międzynarodowej jak EMBO. Warte podkreślenia jest to, że Habilitantka odbyła dwa długoterminowe podoktorskie staże naukowe w ośrodkach zagranicznych, a efektem jej działalności w tych ośrodkach są publikacje naukowe. Dorobek publikacyjny dr Anny Kuli-Pācurar przed uzyskaniem stopnia doktora obejmował 1 pracę oryginalną, a po uzyskaniu stopnia doktora 21 prac o łącznym współczynniku oddziaływań $IF = 136,776$. W większości prac po uzyskaniu stopnia doktora dr Anna Kula-Pācurar jest autorem wiodącym. Nie ma więc wątpliwości co do istotnej aktywności naukowej Habilitantki, a także istotności uzyskanych wyników, co ma odzwierciedlenie w ilości cytowań jej prac naukowych. Cenne jest również to, że utrzymuje współpracę naukowe z ośrodkami, w których odbyła staże.

W trakcie swojej kariery naukowej Pani dr Anna Kula-Pācurar aktywnie uzyskiwała finansowanie własnych badań naukowych, zarówno podczas odbywania staży naukowych jak i po powrocie do kraju. Po uzyskaniu stopnia doktora była kierownikiem 5 projektów naukowych finansowanych ze środków Narodowego Centrum Nauki (Sonata Bis, OPUS, Polonez), Komisji Europejskiej jak i Instytutu Pasteura w Belgii. Była również wykonawcą projektu europejskiego, a także opiekunem naukowym w granicie Preludium NCN. Dr Anna Kula-Pācurar współpracuje również aktywnie z otoczeniem społeczno-gospodarczym kierując projektem dotyczącym

przetwarzania próbek w ramach badań klinicznych nad szczepionką przeciwko HIV-1/AIDS, co potwierdza, że jest ona postrzegana jako autorytet naukowy w tej tematyce w Polsce. Ponadto jest członkiem rady doradczej estońskiej firmy Chemestmed, specjalizującej się w syntezie związków epigenetycznych. Aktywność naukowa dr Kuli-Pācurar przejawia się również w referatach wygłoszonych podczas międzynarodowych i polskich konferencji naukowych. Dr Anna Kula-Pācurar jest również zaangażowana w przygotowywanie recenzji artykułów naukowych jak i ekspertem oceniającym wnioski naukowe. Niewątpliwie aktywność naukową dr Anny Kuli-Pācurar można ocenić jako bardzo dobrą.

Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej

Poza aktywnością naukową dr Kula-Pācurar angażuje się w proces dydaktyczny. Osiągnięcia dydaktyczne obejmują aktywności związane z kształceniem studentów i doktorantów. Dr Kula-Pācurar pełniła rolę opiekuna prac magisterskich zarówno podczas staży zagranicznych jak i po powrocie do Polski będąc już pracownikiem Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Obecnie pełni rolę promotora pomocniczego w trzech przewodach doktorskich. Prowadzi też wykład dla studentów związany z jej tematyką badawczą.

Osiągnięcia organizacyjne Habilitantki dotyczą w głównej mierze organizacji pracy zespołów, w ramach których prowadzi swoje badania naukowe. Należy też podkreślić jej zdolność do inicjowania współpracy w tym międzynarodowej. W przygotowanych materiałach nie znalazłam natomiast informacji o działaniach organizacyjnych prowadzonych na rzecz Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Aktywność w działalność popularyzatorską można ocenić jako wystarczającą. Dr Kula-Pācurar angażowała się głównie w wydarzenia edukacyjne dla dzieci.

Wniosek końcowy

Podsumowując, dane dotyczące aktywności naukowej, dydaktycznej i popularyzatorskiej pozwalają ocenić Habilitantkę jako dojrzałego naukowca. W ramach zespołu, w

którym obecnie pracuje rozwija już od dawna własną ścieżkę badawczą. Dorobek zawiera prace oryginalne, które wnoszą istotny wkład w rozwój nauki oraz mają potencjalne znaczenie aplikacyjne. Autorka kierowała bądź kieruje projektami naukowymi, a dzięki nawiązywaniu współprac naukowych jej badania mają charakter interdyscyplinarny. Prowadzone badania nie mają wyłącznie charakteru badań podstawowych, gdyż Habilitantka prowadzi również badania we współpracy z sektorem gospodarki. Przedstawione osiągnięcia naukowe odpowiadają kryteriom stawianym przy ubieganiu się o stopień naukowy doktora habilitowanego. Z wyżej wymienionych powodów rekomenduję Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie poparcie wniosku o nadanie dr Annie Kuli-Păcurar stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

KIEROWNIK
Zakładu Szczepionek Rekombinowanych



dr hab. Ewelina Król, prof. UG