



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

Wrocław, 2022-06-21

Prof. dr hab. Krystyna Dąbrowska
Laboratorium Biologii Molekularnej Bakteriofagów
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
Polska Akademia Nauk
ul. Weigla 12
53-114 Wrocław
tel. +48 71 3371172 wew. 316
email: dabrowska@hirsfeld.pl

WPLYNĘŁO DNIA :

29-06-2022

DZIEKANAT
Wydziału Biotechnologii UWr

Wb. 412.3. 2021. 2022. 12

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Natalii Porębskiej

pt. „Regulacja przestrzennej dystrybucji receptora 1 czynników wzrostu fibroblastów przez multimeryczne ligandy oparte o motywy coiled-coil oraz oligomeryczne warianty GFP”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Natalii Porębskiej została wykonana pod opieką promotorską Pana dr hab. Łukasza Opalińskiego, na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, w Zakładzie Inżynierii Białka. Jest to znany i uznany wrocławski ośrodek naukowy, mający szczególne osiągnięcia w zakresie biologii molekularnej, w tym identyfikacji szlaków sygnałowych i funkcji białek o dużym znaczeniu praktycznym. Grupa promotora pracy, dr hab. Łukasza Opalińskiego, bada białka FGFR, które mogą odgrywać istotną rolę w powstawaniu nowotworów, a wyniki badań zespołu są podstawą do tworzenia terapii celowanych. Ma to szczególne znaczenie w kontekście rozwijania terapii alternatywnych do konwencjonalnej chemioterapii, radioterapii oraz interwencji chirurgicznej. Konwencjonalne terapie obarczone są bowiem dużym ryzykiem skutków ubocznych. Terapie celowane są ukierunkowane na niszczenie komórek nowotworowych, omijając komórki zdrowe, dzięki czemu zwiększa się efektywność terapii i bardzo mocno ograniczane są skutki uboczne. Dlatego prace ukierunkowane na identyfikację nowych celów molekularnych, wraz z aktywnymi ich ligandami, mają duże





INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

znaczenie dla postępu badań biomedycznych i tworzenia zupełnie nowych rodzajów terapii możliwych do zastosowania w ciężkich schorzeniach o istotnym znaczeniu społecznym.

Przedstawiona do recenzji praca dotyczy receptora błonowego FGFR1 jako potencjalnego celu terapeutycznego, dla którego zidentyfikowano nowe substancje wiążące o zróżnicowanej aktywności, a następnie zaprojektowano nową strategię wytwarzania koniugatów cytotoksycznych. Rozprawa została wykonana w formie zbioru czterech publikacji naukowych, w tym jednej publikacji o charakterze przeglądu literatury oraz trzech kolejnych prezentujących oryginalne wyniki badań. Taka forma doskonale spełnia nie tylko wymogi formalne, a także współczesne oczekiwania dotyczące eksperymentalnych prac doktorskich. Cykl opatrzono polskojęzycznym i angielskojęzycznym streszczeniem, polskojęzycznym rozdziałem wprowadzającym (Wprowadzenie), podano zwięzły i bardzo jasno sformułowany Cel pracy, załączono oświadczenia dotyczące wkładu autorskiego w powstanie poszczególnych publikacji stanowiących element cyklu.

Pierwsza z prac wchodzących w skład przedstawionego cyklu została opublikowana w czasopiśmie *Journal of Clinical Medicine* w roku 2019, Doktorantka jest jej pierwszym autorem. Praca ma charakter przeglądu literatury i podsumowuje stan wiedzy na temat roli receptorów FGFR w procesach nowotworzenia, ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów transportu komórkowego FGFR oraz ich potencjału w medycynie precyzyjnej. Praca ta stanowi bardzo dobry wstęp dla przedstawionego do oceny cyklu, dając szerokie informacje o przedmiocie badań Doktorantki, obejmując wszystkie najważniejsze zagadnienia i dając bardzo dobre podstawy teoretyczne do zrozumienia pozostałych elementów cyklu. Wskazano typowe strategie terapeutyczne mające na celu hamowanie aktywacji FGFR, a także wyjaśniono rolę ligandów jak i koniugatów przeciwciał z lekami cytostatycznymi.

Druga praca przedstawionego cyklu została opublikowana w piśmie *Cell Communication and Signaling* w roku 2019, Doktorantka pełni w niej rolę drugiego autora. Praca ma charakter oryginalny i dotyczy identyfikacji zewnątrzkomórkowej galektyny-1 i galektyny-3 jako nowych białek wiążących receptor FGFR1. Zbadano również wpływ galektyn na



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

aktywność oraz wewnątrzkomórkowy transport tego receptora. Ciekawostką są zaobserwowane różnice aktywności występujące pomiędzy galektyna-1 a galektyną-3, które zdaniem Autorów wynikają z różnic strukturalnych, ponieważ galektyna-1 jest dimerem, co powoduje, że cząsteczki wiążanego FGFR1 znajdują się bliżej niż w przypadku interakcji z pentameryczną galektyną-3. Praca obejmuje szereg zaawansowanych metod z dziedziny biologii molekularnej, w tym wizualizacji oraz identyfikacji szlaków aktywacji receptora.

Trzecia praca cyklu została opublikowana w piśmie *International Journal of Biological Macromolecules* w roku 2021, Doktorantka pełni w niej rolę pierwszego autora. Praca ma charakter oryginalny i stanowi kontynuację prac opisanych w poprzedniej pozycji. W ramach tej pracy Doktorantka przygotowała zestaw oligomerycznych ligandów dla FGFR1; ligandy te różniły się architekturą i reprezentowały zróżnicowane układy, w tym różnie ułożony motyw coiled-coil zaangażowany w oligomeryzację. Na pozytywne podkreślenie zasługuje w tej pracy szeroki wachlarz zaawansowanych metod molekularnych oraz bardzo starannie i przejrzyście przygotowane grafiki, które świetnie dokumentują przeprowadzone prace i uzyskane wyniki.

Czwarta praca cyklu została opublikowana w piśmie *Biomacromolecules* w roku 2021, Doktorantka również w tej pozycji pełni rolę pierwszego autora. Praca również ma charakter oryginalny i stanowi kontynuację prac opisanych w poprzednich pozycjach. Doktorantka opracowała w niej i przetestowała wydajny system generowania samoorganizujących się, fluorescencyjnych, oligomerycznych cząstek kierujących dla koniugatów cytotoksycznych rozpoznających FGFR1. Również tutaj wykorzystane zostały najnowocześniejsze metody molekularne a wyniki przedstawiono na licznych, bardzo dobrze przygotowanych i przejrzystych rycinach.

Przedstawiony do oceny cykl prac oceniam bardzo wysoko, reprezentują one bardzo dobry poziom naukowy i dotyczą oryginalnych, ważnych z punktu widzenia naukowego zagadnień. Wszystkie opublikowano w dobrych i bardzo dobrych pismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, o współczynnikach wpływu od 5,111 do 6,988. Cykl jest spójny tematycznie i kolejne prace stanowią wyraźną kontynuację poprzednich. Prace wykonano najnowszymi metodami dostępnymi w dziedzinie i dowodzą one wysokich umiejętności



INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA

Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

technicznych oraz biegłości w pracy laboratoryjnej. Dlatego nie wnoszę poważnych uwag merytorycznych do ocenianej rozprawy, a moje pytania dotyczą raczej rozszerzenia podanych w rozprawie informacji.

1. Najważniejsze pytanie dotyczy identyfikacji indywidualnego wkładu Doktorantki w każdą z prac cyklu. Chodzi tu o merytoryczne określenie zakresu przeprowadzonych prac, które powinno wykraczać poza niewiele mówiące i trudne do weryfikacji określenie tzw. wkładu procentowego. Jakie konkretnie prace wykonała Doktorantka? Pozycja pierwszego autora w trzech pracach pozwala wnioskować o jej wiodącej roli i pozwala na przyjęcie tych elementów cyklu, chociaż i tutaj merytoryczne określenie wkładu jest ważne dla oceny pracy doktorskiej. Kluczowe jest natomiast w pracy, gdzie Doktorantka pełni rolę drugiego autora, uzupełnienie w tym zakresie uważam za bardzo istotne.
2. Pierwsza praca cyklu stanowi ciekawe i bardzo dobrze przygotowane wprowadzenie teoretyczne do centralnego problemu ocenianej pracy doktorskiej. Chciałabym prosić o uzupełnienie informacji w zakresie prawidłowych funkcji pełnionych przez FGFR, ze szczególnym uwzględnieniem tej roli w wypadku lokalizacji mitochondrialnej lub jądrowej. Drugie pytanie dotyczy fagocytozy, która w pracy nie została wymieniona pośród typów endocytozy mających znaczenie dla internalizacji receptorów FGFR- jaki jest aktualny stan wiedzy w tym zakresie?
3. Druga praca cyklu objęła oryginalne obserwacje różnic pomiędzy efektem, jaki na aktywność FGFR1 ma galaktyna-1 i galaktyna-3, przy czym pierwsza z nich ma jednoznacznie aktywność stymulującą, w tym stymulującą odpowiedź antyapoptotyczną oraz pro-proliferacyjną komórek nowotworowych. Pracę wzbogaciłaby krótka dyskusja, jak praktycznie przełożyć takie obserwacje na projektowanie nowych, skutecznych terapii przeciwnowotworowych, do których odnosi się Doktorantka?
4. Do trzeciej pracy zawartej w ocenianym cyklu mam pytanie ogólne: jakie są zdaniem Doktorantki najważniejsze przesłanki, które należy przede wszystkim brać pod uwagę wybierając optymalne ligandy o potencjale terapeutycznym?
5. Czwarta praca cyklu prezentuje system generowania samoorganizujących się, fluorescencyjnych, oligomerycznych cząstek kierujących dla koniugatów



**INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ
IM. LUDWIKA HIRSZFELDA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**
Centrum Doskonałości : IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLSKA
Telefon: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71
www.iitd.pan.wroc.pl

cytotoksycznych rozpoznających FGFR1, a testując aktywność zastosowano monometylo-aurystatynę. Na ile uniwersalny jest zaproponowany system pod względem akceptowanych składników cytotoksycznych, t.j. na jakie inne składniki można potencjalnie wymienić monometylo-aurystatynę i czy występują tu jakieś ograniczenia (np. charakter chemiczny, masa, lub inne)?

Podsumowanie

Po dokładnym zapoznaniu się z przedstawioną do oceny pracą stwierdzam, że zakres wykonanych badań i uzyskanych wyników z nawiązką spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim. Przeprowadzone badania oraz włączona do rozprawy praca przeglądowa dowodzą wysokich umiejętności i wiedzy w zakresie biologii molekularnej oraz ich praktycznego przełożenia na rozwiązania ważne z punktu widzenia problemów medycznych.

Stwierdzam, że Doktorantka wykonała ciekawą i nowatorską pracę badawczą, wnoszącą oryginalny wkład w zrozumienie funkcji receptora błonowego FGFR1 jako potencjalnego celu terapeutycznego. Rozprawa została napisana zrozumiale, starannie, kompletnie. Przedstawiona do oceny rozprawa spełnia w mojej ocenie wymagania stawiane ustawowo rozprawom doktorskim, dlatego przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego wniosek o dopuszczenie mgr Natalii Porębskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego, a także składam wniosek o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy.

Prof. dr hab. Krystyna Dąbrowska

**INSTYTUT IMMUNOLOGII
I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ**
im. Ludwika Hirsztfelda PAN
**LABORATORIUM BIOLOGII
MOLEKULARNEJ BAKTERIOFAGÓW**
53-114 Wrocław, ul. Rudolfa Weigla 12
Tel. 71 370 99 51, 71 337 11 72 wew. 179
NIP: 896-000-56-96

Prof. dr hab. Krystyna Dąbrowska
kierownik
**LABORATORIUM BIOLOGII
MOLEKULARNEJ BAKTERIOFAGÓW**
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN
Wrocław

