



Prof. dr hab. Bożena Kamińska-Kaczmarek
Pracownia Neurobiologii Molekularnej
Tel. +48 22 5892209
Email: b.kaminska@nencki.gov.pl

Warszawa, 17.05.2023

Ocena osiągnięcia naukowego, osiągnięć naukowo-badawczych i aktywności naukowej oraz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego doktora Jakuba Godlewskiego **pt.:** **„Rozprawa o utraconym i przywróconym niekodującym RNA w ludzkich komórkach nowotworowych”**
w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego

Ocena formalna

Jako osiągnięcie naukowe zgłoszono cykl 7 zbliżonych tematycznie, oryginalnych prac opublikowanych w latach 2008-2020 pod tytułem: „**Rozprawa o utraconym i przywróconym niekodującym RNA w ludzkich komórkach nowotworowych**” (*ang. „The dissertation on the discovering and restoring of lost non-coding RNA landscape in human cancer cell”*). W dwóch pracach dr Godlewski jest pierwszym autorem, a pozostałych pracach jest autorem korespondującym. Cykl zgłoszonych publikacji jest bardzo spójny tematycznie i dotyczący znaczenia różnych miRNA w procesach nowotworzenia. Otrzymane materiały są kompletne i zawierają 1) autoreferat; 2) informację o przebiegu kariery, dorobku naukowym, dydaktycznym, wdrożeniowym i popularyzatorskim; 3) wykaz opublikowanych przez Kandydata prac oraz oświadczenia współautorów określających swoją rolę w wieloautorskich publikacjach zgłoszonych w habilitacji.

Przedstawione materiały są kompletne i spełniają wymogi formalne określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytułach naukowych. Zarówno wiodący udział dr J. Godlewskiego w zgłoszonych publikacjach jak i załączone oświadczenia współautorów, definiują jednoznacznie jego istotny udział w stworzeniu koncepcji doświadczeń, zapewnieniu finansowania projektów, przeprowadzeniu doświadczeń, analizie danych i interpretacji wyników oraz w przygotowaniu manuskryptów.

Dr Jakub Godlewski uzyskał stopień magistra na Uniwersytecie Warszawskim i w tej samej instytucji obronił w 2002 r. rozprawę pt. „*Analiza ekspresji genów kodujących białka zapasowe u diapauzujących larw Galleria mellonella (Lepidoptera)*”. Dalsza kariera zawodowa dr Jakuba Godlewskiego jest związana w dwiema doskonałymi instytucjami naukowymi w USA. Staż podoktorski odbył na Uniwersytecie Teksaskim (2002-2003), a kolejny na Ohio State University w Columbus, USA (2004-2010). W latach 2010-2012 pracował jako research assistant profesor na Ohio State University w Columbus, USA. W latach 2012-2020 pracował w Harvard Medical School, Brigham and Women’s Hospital w Bostonie, początkowo jako *instructor*, a od 2015 jako *assistant profesor*. Od 2020 r. jest kierownikiem pracowni w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN i kieruje własnym zespołem badawczym. W trakcie tych długotrwałych staży w zagranicznych, prestiżowych instytucjach dr J. Godlewski osiągnął duży sukces naukowy publikując szereg znaczących prac, które zostały wysoko ocenione przez środowisko naukowe.

Ocena merytoryczna

Ocena osiągnięć naukowo-badawczych i aktywności naukowej

Zgłoszony do oceny cykl 7 prac oryginalnych, opublikowanych w latach 2008-2020. W dwóch artykułach Wnioskodawca jest pierwszym autorem, a w pięciu jest autorem korespondencyjnym. Publikacje stanowią spójny tematycznie cykl prac, który został przedstawiony w autoreferacie pt. „**Rozprawa o utraconym i przywróconym niekodującym RNA w ludzkich komórkach nowotworowych**” (*ang. „The dissertation on the discovering and restoring of lost non-coding RNA landscape in human cancer cell”*). Pod tym nieoczywistym i

provokacyjnym tytułem kryje się cykl publikacji stawiających w nowym świetle dotychczasową wiedzę dotyczącą niekodującego RNA (ncRNA). Należy podkreślić, że kiedy dr Godlewski rozpoczął pracę nad ncRNA, wiedza w tej dziedzinie była bardzo ograniczona i nie uświadamiano sobie pełnego znaczenia kontroli regulacji ekspresji genów przez ncRNA w komórkach ssaków, w tym człowieka. W późniejszych latach nastąpił ogromny postęp w tej dziedzinie i udokumentowano, że regulacja ekspresji różnych klas ncRNA (znaleziono szereg podtypów) zależy od typu komórki, tkanki, organu, stadium rozwojowego i sytuacji patologicznej). Część badaczy uważa, że deregulacja ncRNA jest podstawą i głównym mechanizmem nowotworzenia. Choć osobiście nie należę do grupy przypisującej aż tak dużą rolę deregulacji ncRNA w transformacji nowotworowej (uważam zmiany poziomu ncRNA bardziej za konsekwencję, a nie za przyczynę transformacji nowotworowej), nie wątpię, że podjęcie tego zagadnienia było jak najbardziej celowe i naukowo uzasadnione. Systematyczna analiza rodzajów i poziomów ncRNA w próbkach nowotworów oraz poszukiwanie ścieżek rozwojowych sterujących różnicowaniem komórek, pomogło zidentyfikować potencjalne mechanizmy zaburzeń, a także wyłoniło mechanizmy mogące być przedmiotem manipulacji przywracających równowagę. W licznych pracach bardzo dobrze udokumentowano ich specyficzną i regulowaną obecność i aktywność, ale słabo zbadano, jak wpływają na funkcjonowanie komórek. Te lukę poznawczą wypełniły częściowo badania Dr. Godlewskiego, który skupił się na zrozumieniu i poznaniu mechanizmów nieprawidłowej ekspresji ncRNA (głównie klasy miRNA i kolistego ncRNA) i znaczeniem takiej zmienionej regulacji oraz próbą przywrócenia poziomu prawidłowego. W swoich badaniach skupił się na nowotworach układu nerwowego, glejakach, które ciągle stanowią wyzwanie dla biologów (ze względu na swoją znaczącą heterogenność) oraz klinicystów (z powodu braku skutecznej terapii).

Autoreferat dr Godlewskiego w ciekawej formie (momentami wręcz beletrystycznym językiem, w podtytułach np. „mikronaom w kleszczach raka”) przedstawia omówienie prac stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego w szerokim kontekście nagromadzonej wiedzy na ten temat. Jest to bardzo ciekawa i pouczająca lektura, będąca kompetentnym i autorskim przedstawieniem zagadnienia będącego przedmiotem ogromnego zainteresowania w świecie biologów i klinicystów. Prace dr. Godlewskiego wyróżniają się nie tylko odwagą w podejmowaniu nowych tematów i opracowywaniu ich w oryginalny sposób, ale także szerokim zakresem używanych, nowoczesnych metod, zastosowaniem zwierzęcych modeli badawczych i zaawansowaną analizą próbek ludzkich guzów. Tym co szczególnie odróżnia te prace od licznych prac pokazujących profile ekspresji, jest zwykle zawansowana molekularnie analiza mechanizmów regulacji i znaczenia tych procesów.

Praca Godlewski i wsp. (*Cancer Res* 2008) jest krótką pracą pokazującą profile miRNA (miR) w próbkach ludzkiego glejaka w porównaniu z sąsiednim obszarem pozbawionym guza w małej grupie pacjentów (n=5) i kilka znaczących zmian, w tym wyraźną redukcję miR-128 w próbkach guza. Ekstopowa ekspresja miR-128 znacznie zmniejszała proliferację komórek 2 linii glejaka in vitro i wzrost ksenoprzeszczepu glejaka in vivo. miR-128 obniżał ekspresji genu *Bmi-1* przez bezpośrednią regulację nieulegającego translacji regionu 3' mRNA *Bmi-1*, poprzez pojedyncze miejsce wiążące miR-128. *Bmi-1* koduje białko wchodzące w skład kompleksu PRC1 (the polycomb repressor complex (PRC1), który kontroluje wyciszenie ekspresji genów i odnawianie się macierzystych komórek nowotworowych (GSC, glioma stem cells). W próbkach glejaka ekspresja *Bmi-1* była znacząco podwyższona, a miR-128 obniżona w porównaniu z normalnym mózgiem. Wzmocniona ekspresja miR-128 w transfekowanych komórkach spowodowała spadek metylacji histonu H3K27me3 i fosforylacji Akt oraz wzrost poziomu inhibitora cyklu komórkowego p21 (CIP1). Wzmocniona ekspresja miR-128 w komórkach 3-D sfer ludzkiego glejaka (wzbogaconych w komórki o fenotypie GSC) obniżało ekspresję *Bmi-1* i blokowało samoodnawianie komórek GSC glejaka. Praca nie była pozbawiona wad: liczba badanych próbek, w których

profilowano miR (n=5) była bardzo mała, a ksenografty implantowano podskórnice, co obecnie jest nieakceptowalne w przypadku badań guzów mózgu. Ale był jeden z pierwszych przykładów specyficznej regulacji ważnego czynnika związanego z samoodnawianiem GSCs, wskazujący konkretny miR jako ważny cel biologiczny i terapeutyczny przeciwko komórkom macierzystym (inicjującym) glejaka.

Kolejny ciekawe i nowatorskie aspekty w badaniach nad funkcjami miR przedstawiono w pracy Godlewski i wsp. (*Mol Cell* 2010). Autorzy skupili się nad miRNA związanymi z regulacji inwazyjności komórek glejaka i aby jest zidentyfikować zastosowano profilowanie z użyciem mikromacierzy RNA z komórek glejaka hodowanych jako 3-D sferoidy w trakcie migracji. Największą zmianą był spadek miR-451 w migrujących komórkach. miR-451 kontrolował proliferację, migrację i reakcję komórek glejaka na niedobór glukozy. Wysoki poziom glukozy umożliwia wysoką ekspresję miR-451, promując wzrost komórek. Przy niskim poziomie glukozy poziomy miR-451 zmniejszają się, spowalniając proliferację, ale zwiększając migrację i przeżywalność ułatwiając przetrwanie komórek w warunkach stresu metabolicznego i poszukiwanie sprzyjających warunków wzrostu. U pacjentów z glejakiem podwyższony miR-451 korelował z krótszym przeżyciem. Z wykorzystaniem bazy Targetscan v4.2 przewidziano potencjalne miejsca wiązania miR-451 do określonych genów i skupiono się na CAB39, który reguluje LKB1/AMPK zaangażowane w regulację metabolizmu. Wykazano, jaki mechanizm molekularny uczestniczy w efektach miR-451 i za pomocą RNAi pokazano, że jest to LKB1 oraz oddziałujące z nim białko CAB39 (MO25 alfa). Także w tej pracy łączono badania na hodowanych komórkach z weryfikacją wyników na materiale od pacjentów. W pracy przedstawiono hipotezę, że miR-451 jest regulatorem szlaku LKB1/AMPK, co może być mechanizmem, który przyczynia się do adaptacji komórek do zmienionej dostępności energii w komórkach nowotworowych. Przy dużej wadze i oryginalności uzyskanych wyników trochę dziwi brak informacji, ile próbek glejaków było badanych pod kątem profili miR, in situ hybrydyzacji i liczby próbek wykorzystanych od obliczenia krzywych przeżywalności Kaplana-Meiera.

Równie ciekawa i oryginalna jest praca Peruzzi i wsp. w *Neuro-Oncology* 2013. Pokazano, że poza oddziaływaniem na BMI1, składnik kompleksu PRC1, miR-128 oddziałuje na mRNA *SUZ12*, kodujący składnik kompleksu represyjnego PRC2. Hamowanie funkcji PRC1/PRC2 i związanych z tym modyfikacji histonów mogą mieć bardzo duży globalny wpływ na transkryptom komórek. *MiR-128* i *SUZ12/BMI1* wykazują przeciwne kierunki ekspresji w ludzkich glejakach w porównaniu z normalnym mózgiem oraz w komórkach macierzystych glejaka w porównaniu z nerwowymi komórkami macierzystymi. Modulacja *miR-128* powodowała, że komórki macierzyste glejaka stawały się mniej odporne na promieniowanie, zapobiegając indukowanej promieniowaniem ekspresji obu składników PRC. Ekspresja miR-128 była niższa w nerwowych komórkach macierzystych z mózgu młodych, przedobojawowych myszy w mysim modelu glejaka. Wyniki sugerowały, że obniżenie ekspresji miR-128 w mózgu jest wczesnym zdarzeniem w gliomagenezie. Wyłączenie ekspresji miR-128 w niezłośliwych mysich i ludzkich nerwowych komórkach macierzystych prowadziło do podwyższonej ekspresji składników PRC i zwiększonej klonogenności.

W pracy Godlewski i wsp. (*Stem Cell Reports* 2017) dr Godlewski zajął się związkiem między miR a pęcherzykami pozakomórkowymi (EV) i możliwością profilowania ich zawartości w celu lepszej diagnostyki glejaków oraz zbadania, jak wpływają one na zachowania GCS. Przedstawiono profile ekspresji i wydzielania miR w fenotypowo zróżnicowanych subpopulacjach komórek macierzystych glioblastoma (GSC) pochodzących od pacjentów. Izolowanie EV nie jest łatwym zadaniem, więc optymalizacja protokołu i precyzyjna charakterystyka ich złożoności zasługuje na uwagę. Wykazano, że wewnątrznowotworowa wymiana miR za pośrednictwem EVs zwiększa heterogenność GSC, co znajduje odzwierciedlenie w wysoce heterogenicznym profilu ekspresji mikroRNA w podtypach GBM. Tak jak poprzednio praca została wykonana na GCS

pochodzących od pacjentów, licznymi metodami, a korelacje sprawdzano w bazie danych TCGA, aby odnieść je do bezpośrednio do patologii u człowieka.

Ten temat został rozwinięty w pracy Rooj i wsp. (*Cell Rep* 2017), w której przedstawiono wyniki badań nad ekspresją mikroRNA-128 w zróżnicowanych transkrypcyjnie i fenotypowo subpopulacjach komórek macierzystych pochodzących od pacjentów z GBM. Wykazano w niej, że zmiany poziomu miR-128 są ważnym mechanizmem dwukierunkowych komunikacji pomiędzy subpopulacjami GBM, co powoduje powstanie pośrednich stadiów hybrydowych. W przejściach podtypów transkrypcyjnych i fenotypowych zależnych od miR-128 pośredniczą kompleksy represyjne Polycomb i wpływa to na rozwój guzów w modelu zwierzęcym. Transkryptom zależny od miR-128, który określono w badaniu na GSC i który wpływał na przeżywalność w modelu mysim, korelował w podobny sposób z przeżywalnością pacjentów (dane TCGA).

W pracy Bronisz i wsp. (*Sci Adv* 2020) zbadano profile mikroRNA („mikroRNAom”) w komórkach ludzkiego glejaka i wykazano, że „mikroRNAom” jest znacznie obniżony w porównaniu z poziomami tych miRNA w normalnym mózgu. Wykazano, że jest to spowodowane nieprawidłowym dojrzewaniem potranskrypcyjnym mikroRNA w komórkach glejaka i połączono to zjawisko z nieprawidłową jądrową lokalizacją DICER, głównego kompleksu enzymatycznego odpowiedzialnego za dojrzewanie mikroRNA. Analiza składu czynników wchodzących w interakcje z jądrowym DICER wykazała obecność w kompleksie białka wiążącego RNA, RBM3, oraz kolistego RNA, circ2082. Usunięcie circ2082 techniką RNAi powodowało przywrócenie cytozolowej lokalizacji DICER i globalna derepresję mikroRNAmu, co prowadziło do rearanżacji całego transkryptomu, zmniejszając agresywność komórek glejaka in vitro i in vivo. Zauważono też korelacje z korzystnymi wynikami u pacjentów ze złośliwym glejakiem (GBM, WHO stopień 4). Przedstawione wyniki odkrywają mechanistyczne podstawy deregulacji „mikroRNAomu” oraz specyficznej jego klasy cyrkularnego (kolistego) RNA w komórkach nowotworowych.

Zarówno prace włączone do rozprawy habilitacyjnej jak i przedstawiony dorobek naukowy jest bardzo dobry, uzyskane wyniki w pewnych aspektach pionierskie i przyczyniające się do poznania ważnych procesów nowotworzenia. Praca są metodycznie złożone, wyniki elegancko i ciekawie przedstawione. Nawet nie będąc niewolnikiem współczynników oddziaływania (IF) nie sposób nie dostrzec, że prace zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach. Ocena naukometryczna (cytowania i współczynnik oddziaływania czasopism) pokazują, że prace wskazane w rozprawie i inne prace, w których przygotowaniu uczestniczył dr Godlewski, wzbudziły duże zainteresowanie środowiska naukowego i były cytowane ponad 4100 razy, a indeks Hirscha wynosi 30.

Ocena działalności organizacyjnej

Dr Jakub Godlewski był od początku swojej kariery naukowej beneficjentem licznych stypendiów, które umożliwiły mu realizację doktoratu i stażu podoktorskiego. W USA był kierownikiem projektu NIH-NCI 1R01CA176203-01A1 (2014-2019) pt. „MicroRNA128 regulation of Polycomb Repressor Complex 1 and 2 in glioblastoma” oraz wykonawcą w projekcie NIH-NCI P01# 5P01CA069246-16 “Experimental Therapeutics and Bio Monitoring for Brain Tumors, 2012-2017”. Są to to bardzo prestiżowe granty i ich uzyskanie świadczy o wysokiej wartości projektu i dorobku kierownika.

Po powrocie do Polski został Kierownik NAWA # PPN/PPO/2019/1/00001 (2020-2024), a jako kierownik własnej grupy badawczej dr Godlewski kieruje 2 projektami NCN: OPUS # 2021/41/B/NZ6/02436 pt. “Extracellular vesicles carrying microRNA in experimental immunotherapy for glioblastoma” i NCN OPUS # 2020/39/B/NZ5/02893 “The role of circular RNA – MALAT1 in breast-to-brain cancer metastasis”, 2022-2025.

Jest też mentorem w projekcie Preludium "MicroRNA-carrying extracellular vesicles for the therapy of glioblastoma".

Jest członkiem towarzystw, do których trzeba być zarekomendowanym: Society For Neuro-Oncology (2006 – 2019) i American Association For Cancer Research (2007 – 2019). Wielokrotnie recenzował prace do prestiżowych czasopism i uczestniczył w recenzowaniu projektów grantowych międzynarodowych instytucji. Wszystkie wymienione elementy wskazują na bardzo dobrze rozpoznanie i docenianie jego aktywności naukowej.

Jest autorem patentu: "Circular RNA and its partners as a novel treatment for cancer," filed in the United States Patent and Trademark Office on October 13, 2020, as application 63/091,251

Uzyskał nagrody: 2021: Wyróżnienie Dyrektora Instytutu Medycyny Doświadczalnej I Klinicznej Im. M. Mossakowskiego PAN oraz 2010: The Jeffrey Thomas Hayden Foundation Fellowship.

Podsumowując, dr Jakub Godlewski jest od lat bardzo samodzielnym uczonym, kierownikiem własnych, prestiżowych grantów i USA i w Polsce. Jest międzynarodowo uznanym uczonym, uczestniczącym w ocenianiu projektów dla różnych instytucji w Europie i USA. Liczy się na arenie międzynarodowej jako recenzent i wykładowca. Ma znaczące doświadczenie jako mentor.

Ocena działalności dydaktycznej

Dr Godlewski w trakcie swojej kariery zawodowej był aktywnie zaangażowany w opiekę nad doktorantami, stażystami medycznymi i młodymi kadrami naukowymi. Opiekował się licznymi postdokami i doktorantami, obecnie ma też kilku pod swoją opieką.

Ogólnie oceniam jego aktywność dydaktyczną jako znaczącą i pozytywną.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Na podstawie oceny dokumentacji szczególnego osiągnięcia naukowego (w znaczeniu artykułu 16.2 ustawy), osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznego oraz współpracy międzynarodowej, stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, **oceniam bardzo wysoko całokształt dorobku naukowego dr. Jakuba Godlewskiego.** Cykl 7 publikacji zgłoszony jako rozprawa stanowi oryginalny, nowatorski i bardzo ważny wkład do naszej wiedzy i do rozwoju nauki. Wszystkie zgłoszone prace są interdyscyplinarne, wielometodyczne i bardzo wysokiej jakości naukowej. Prace te zostały zauważone przez środowisko naukowe, szeroko cytowane i dyskutowane. Wyniki badań dr. Godlewskiego mają też znaczenie praktyczne, gdyż dostarczają istotnych informacji co do wykorzystanie profili miRNA w diagnostyce i w przyszłości w terapii. Widać też, że jest naukowcem z wizją naukową, który wybiera i definiuje ważne problemy biologiczne, który chce rozwiązać, a nie podąża za innymi. Jest od lat całkowicie samodzielnym uczonym, kierownikiem własnych projektów badawczych. Należy się tylko cieszyć, że tej klasy uczonego pragnie pracować w Polsce, bo na jego obecności skorzysta całe środowisko naukowe.

Całościowy dorobek **dr. Jakuba Godlewskiego** stanowi bardzo znaczący wkład do rozwoju nauki i w pełni odpowiada kryteriom stawianym przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego określonym w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytułach naukowych. **Z wyżej wymienionych powodów rekomenduję Radzie Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego wsparcie wniosku o nadanie dr. Jakubowi Godlewskiemu stopnia doktora habilitowanego.**

Z poważaniem

Prof. dr hab. Bożena Kamińska-Kaczmarek