

Prof. dr hab. Krystyna Bieñkowska-Szewczyk
Uniwersytet Gdański
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed
Zakład Biologii Molekularnej Wirusów
Abrahama 58 , 80-307 Gdańsk
Tel. (+48) 58 5236381
e-mail : krystyna.bienkowska-szewczyk@biotech.ug.edu.pl



RPW/19279/2022
Data: 2022-09-29
UMB

Gdańsk 20 września 2022

Ocena osiągnięć naukowych i dorobku naukowo-badawczego dr Magdaleny Weidner-Glunde

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Dr Magdalena Weidner-Glunde pracuje obecnie (od 2018 r.) w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, jako adiunkt w Zakład Immunologii i Patologii Rozrodu. Poprzednio zdobywała doświadczenie badawcze, studiowała i pracowała w kilku instytucjach naukowych, amerykańskich i niemieckich. Po studiach magisterskich , rozpoczętych w Gdańsku a ukończonych w USA , realizowała projekt doktorski w Johns Hopkins University School of Medicine w Baltimore w USA. Johns Hopkins University to jedna z najstarszych i najbardziej prestiżowych uczelni w USA , więc przyjęcie na studia doktoranckie na Wydziale Medycznym tej uczelni można uznać za wyróżnienie. Dr Weidner-Glunde w ciągu 5 lat spędzonych na tym uniwersytecie uczestniczyła w programie kształcenia w zakresie Biochemii, Biologii Komórkowej i Molekularnej i pracowała nad projektem doktorskim pod kierunkiem prof. Diane Hayward. W tym czasie jej głównym modelem badawczym, którego dotyczy większość jej prac, stał się gamma-herpeswirus, wirus mięsaka Kaposiego (KHSV) . Pracę doktorską pt “SP100-HMG, a KSHV LANA interactor involved in chromosome tethering and LANA association with nuclear bodies” ukończyła w r.2005, a od roku 2006 rozpoczęła staż podoktorski w laboratorium prof. Thomasa Schulza w Instytucie Wirusologii Uniwersytetu Medycznego w Hannoverze w Niemczech. W tym bardzo znanym zespole, specjalizującym się w badaniach HIV i herpeswirusów, dr Weidner-Glunde pracowała przez prawie 12 lat, najpierw jako „postdoc”, potem jako doświadczony badacz („senior researcher”) i, mimo że pracowała w różnych projektach, jej główny nurt badawczy był skupiony na białku LANA (Latency-Associated Nuclear Antigen) wirusa KHSV, a więc tematyki , której dotyczy też zestaw prac tworzących osiągnięcie habilitacyjne.

Hannover jest od wielu lat znakomitym ośrodkiem wirusologicznym, gdzie prowadzone są badania na różnych wirusach przez wybitne zespoły, więc długi okres pracy w tym środowisku przyniósł Dr Weidner-Glunde szerokie doświadczenie badawcze, o czym świadczy zaprezentowany w jej autoreferacie dorobek naukowy, którego część Habilitantka przedstawiła jako osiągnięcie habilitacyjne.

1. Ocena głównego osiągnięcia naukowego.

Temat głównego osiągnięcia przedstawionego przez Dr Magdalенę Weidner-Glunde to :

Molekularne mechanizmy długotrwałej infekcji wirusem mięsaka Kaposiego (KSHV).

Tematyka ta jest związana z latencją, czyli unikatową, charakterystyczną dla wszystkich herpeswirusów zdolnością do przebywania w organizmie w stanie utajonym, bez objawów choroby i bez produkcji infekcyjnych cząstek wirusowych. Ta zdolność powoduje, że po zafekcji pierwotnej infekcji, herpeswirusy pozostają w zakażonym organizmie przez całe jego życie, co skutkuje powszechną obecnością herpeswirusów w populacjach ludzkich i zwierzęcych. Zjawisko latencji, uważane za „hallmark”, najbardziej typową cechę herpeswirusów było i jest przedmiotem bardzo wielu badań, ale ze względu na złożoność tego zjawiska i trudność w znalezieniu właściwego systemu modelowego, wciąż nie znamy odpowiedzi na wiele zasadniczych pytań dotyczących latencji. W przeciwieństwie do alfa-herpeswirusów, takich jak wirus opryszczki HSV-1, dla których miejscem latencji są komórki nerwowe i u których podczas latencji ekspresja genów i produkcja białek wirusowych jest całkowicie wyciszona, gamma-herpeswirusy: wirus Epstein-Barr (EBV) i wirus KSHV, przejawiają znaczną aktywność w czasie latencji. Dla tych wirusów miejscem latencji są szybko dzielące się limfocyty B i utrzymywanie obecności wirusa w tych komórkach wymaga innej strategii. W przypadku wirusa mięsaka Kaposiego kluczowym elementem tej strategii jest białko LANA, umożliwiające inicjację latentnej replikacji genomu wirusowego oraz pośredniczące w wiązaniu genomów wirusa do chromatyny gospodarza. Spośród nielicznych genów wirusowych, których ekspresja zachodzi podczas latencji KSHV, dominująca jest ekspresja genu kodującego to wielofunkcyjne białko.

Na badaniach dotyczących białka LANA skupione są 4 prace przedstawione jako podstawa do postępowania habilitacyjnego dr Weidner-Glunde. Prace ukazały się w latach 2013-2020, trzy z nich to prace eksperymentalne, a ostatnia praca to artykuł przeglądowy. Wszystkie publikacje ukazały się w międzynarodowych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania (Impact Factor).

Pierwszy artykuł: *“ A structural basis for BRD2/4-mediated host chromatin interaction and oligomer assembly of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus and murine gammaherpesvirus LANA proteins”* został opublikowany w *PLoS Pathogens* w 2013 r. Dr Weidner-Glunde (podobnie jak w następnej publikacji z r 2015) jest pierwszym współautorem tej pracy. Głównym celem tej pracy było lepsze zrozumienie struktury białka LANA spokrewnionych wirusów KSHV i MHV-68 (mysi gammaherpeswirus) w kontekście różnych

funkcji tego białka oraz interakcji z komórkowymi białkami BRD2 i BRD4. Praca była oparta na krystalizacji domeny wiążącej DNA białek LANA obydwu wirusów, co umożliwiło porównanie struktury tych białek z białkiem EBNA1 ludzkiego powszechnie występującego patogenu EBV i wskazanie, że mimo różnych sekwencji aminokwasowych, białka te mają bardzo podobną strukturę przestrzenną. Dzięki danym uzyskanym z krystalizacji, zastosowaniu metod spektroskopowych i wprowadzaniu odpowiednich mutacji w białkach LANA i ich komórkowych partnerach – białkach BRD 2 i BRD 4 z rodziny BET (bromodomain and extraterminal domain), praca ta przyniosła wiele nowych informacji w zakresie strukturalnych cech białek LANA istotnych m.in. dla jego oligomeryzacji, działania w procesie latentnej replikacji i oddziaływania z białkami komórkowymi. Zidentyfikowano ważny funkcjonalnie, bogaty w reszty lizynowe, konserwowany fragment na powierzchni obydwu białek kLANA i mLANA, który jest istotny m.in. w procesie tworzenia tzw. plamek (speckles). Natura powstawania tych charakterystycznych ciałek jądrowych zawierających białka LANA jest zagadnieniem badanym w tej i w innych pracach dr Weidner-Glunde, wykonanych w zespole prof. Schulza.

W następnym artykule, opublikowanym w czołowym amerykańskim czasopiśmie naukowym *The Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS) w 2015 r. „The 3D structure of Kaposi sarcoma herpesvirus LANA C-terminal domain bound to DNA”, w którym dr Weidner-Glunde jest jednym z dwóch równorzędnych pierwszych autorów, przedstawione są dalsze wyniki badań nad strukturą domeny LANA zaangażowanej w wiązanie do DNA. Nowe odkrycia opisane w tej publikacji to m.in. pokazanie, że prócz poprzednio zidentyfikowanych miejsc wiązania LANA do DNA (LBS) istnieje też trzecie miejsce, zlokalizowane w tym samym regionie sekwencji KSHV, co LBS1 i LBS2 i opracowanie modelu wyjaśniającego mechanizm wiązania LANA-DNA w oparciu o nowe dane strukturalne.

Trzecia praca eksperymentalna, w której dr Weidner-Glunde jest jednym z autorów korespondujących, zatytułowana: „Brd/BET proteins influence the genome-wide localization of the Kaposi's Sarcoma-associated herpesvirus and murine gammaherpesvirus major latency proteins” została opublikowana w czasopiśmie *Frontiers in Microbiology* w 2020r. Analizowano w niej relację pomiędzy dystrybucją białek LANA i BRD2/4 a lokalizacją miejsc aktywnej transkrypcji. Badania były ponownie przeprowadzone dla dwóch gammaherpeswirusów, KHSV i MHV-68. Wyniki pokazały podwyższenie ilości białek LANA i białek BRD w pobliżu miejsc startu transkrypcji (TSS) na genomie wirusowym i DNA komórkowym, przy czym niezbędne jest współdziałanie pomiędzy LANA a białkami BET. W tej pracy zastosowano szeroki warsztat nowoczesnych technologii, poszukując odpowiedzi na ważne pytanie dotyczące latencji: czy i jak ograniczona i kontrolowana ekspresja gammaherpeswirusów wpływa na przebieg i poziom ekspresji genów gospodarza.

To pytanie i inne zagadnienia dotyczące mechanizmu latencji herpeswirusów są przedmiotem ostatniej publikacji w cyklu przedstawiającym osiągnięcie habilitacyjne dr Weidner-Glunde. Ta praca, pt. „*Herpesviral latency - Common Themes*” została opublikowana już po powrocie habilitantki do Polski, w r 2020, w czasopiśmie *Pathogens*. Jest to znakomicie skomponowane kompendium wiedzy o tym unikatowym zjawisku biologicznym, omawiające aktualny stan wiedzy na temat latencji. Omówione zostały, z uwzględnieniem najnowszych danych, najważniejsze cechy i mechanizmy zjawiska latencji alfa-, beta- i gammaherpeswirusów, ze wskazaniem na wspólne elementy i cechy indywidualne, różniące poszczególne wirusy należące do ogromnej rodziny *Herpesviridae*. Autorzy wskazali także na te zagadnienia i pytania, na które dalej nie mamy odpowiedzi i omówili różne modele badawcze. Ciekawa jest hipoteza, że podczas latencji alfaherpeswirusów, może również dochodzić, w bardzo ograniczonym stopniu, do ekspresji genów uczestniczących w cyklu litycznym. Artykuł zawiera też wyczerpujący zbiór referencji literaturowych, pomocnych w poszukiwaniach danych na temat latencji herpeswirusów.

Zaprezentowane w tym zestawie prace dr Magdaleny Weidner-Glunde stanowią spójny tematycznie cykl publikacji. Wspólny wątek badawczy tych prac jest skupiony na analizie struktury i funkcji białka LANA wirusa KHSV i na mechanizmie latencji gammaherpeswirusów. Wyniki tych prac mają istotne znaczenie dla lepszego zrozumienia procesu latencji umożliwiającego przetrwanie herpeswirusów we wszystkich organizmach infekowanych przez te wirusy, procesu, którego mechanizm molekularny pozostaje, mimo wielkiego wysiłku badawczego świata naukowego i medycznego, dotychczas tylko częściowo poznany.

Wskaźniki bibliometryczne dla tego cyklu publikacji są bardzo wysokie: sumaryczny współczynnik oddziaływania (impact factor) wynosi 26,612 (540 punktów MNiSW) a liczba cytowań 129. Biorąc pod uwagę, że te dane są oparte tylko na 4 publikacjach, które Habilitantka zdecydowała się włączyć do tego zestawu (choć w jej dorobku są także inne prace dotyczące tej tematyki), są to bardzo wysokie wskaźniki.

2. Ocena pozostałego dorobku naukowo- badawczego.

Poza pracami stanowiącymi główne osiągnięcie naukowe, Dr Weidner-Glunde opublikowała szereg artykułów w bardzo dobrych czasopismach naukowych, z tego 2 publikacje ukazały się przed uzyskaniem stopnia doktora, a 10 (poza wyżej omówionymi artykułami) po doktoracie. Artykuły te ukazywały się w takich czasopismach jak *Journal of Virology* (5 publikacji), *PLoS Pathogens* (5 publikacji), *PNAS*, *Frontiers in Bioscience*, a więc w czasopismach o bardzo wysokiej jakości naukowej. Wiele z tych prac dotyczy głównego obszaru zainteresowań badawczych Habilitantki, tzn. różnych aspektów latencji wirusa KHSV: np. opublikowana w *PLoS Pathogens* w 2009 r. ze współautorami fińskimi praca: „KSHV reactivation from latency requires Pim-1 and Pim-3 kinases to inactivate the latency-associated nuclear antigen LANA”; praca opublikowana w *PNAS* w 2016 r. „Cytoplasmic isoforms of Kaposi sarcoma herpesvirus LANA recruit and antagonize the innate immune DNA sensor cGAS”; praca przeglądowa pt. „Kaposi's Sarcoma-Associated

Herpesvirus Latency-Associated Nuclear Antigen: Replicating and Shielding Viral DNA during Viral Persistence” opublikowana w *J. Virol* w 2017 r. W tej ostatniej pracy dr Weidner-Glunde (jest pierwszym autorem tego artykułu) zebrała i szczegółowo omówiła wszystkie dane na temat struktury białka LANA , jego funkcji i znaczenia dla utrzymywania stanu latencji wirus KHSV . Inna, wcześniejsza praca przeglądowa autorstwa dr Weidner-Glunde to artykuł : „What do viruses BET on?” w *Front Biosci.* (2010), gdzie scharakteryzowano białka z rodziny BET , ich rolę w regulacji transkrypcji i oddziaływaniu z białkami wirusowymi. Rola tych białek w mechanizmie procesu integracji mysiego retrowirusa MLV była badana w pracy: “Bromo- and extraterminal domain chromatin regulators serve as cofactors for murine leukemia virus integration” (*J. Virol.* 2013) . Habilitantka jest także autorką rozdziału w *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)* zatytułowanego “A Review of the Epidemiology and the Mechanisms Underlying KSHV-induced Malignancies”.

Prace Dr Weidner-Glunde cytowano ponad 800 razy, ich sumaryczny wskaźnik IF wynosi ok. 105 (2270 punktów wg wskazań MEN) a index Hirscha $H = 15$. Te wskaźniki bibliometryczne potwierdzają wysoki poziom dorobku naukowego Dr Weidner-Glunde .

Wyniki swoich prac Dr Weidner-Glunde prezentowała także, zarówno w formie prezentacji ustnej jak i w formie plakatowej, na licznych konferencjach naukowych, takich jak: European Congress of Virology, doroczne Meetings of the German Virology Society, Intl.Herpesvirus Workshop i specjalistyczne konferencje poświęcone wirusowi KHSV (International Workshop on KSHV and Related Agents), a ostatnio także referowała prace podjęte w Polsce nad latencją wirusa cytomegalii (HCMV) na kongresie 9th Congress of the Society for Reproductive Biology.

Z tym ostatnim tematem związany jest grant uzyskany przez Dr Weidner-Glunde z Narodowego Centrum Nauki w ramach programu SONATA BIS 2017. Uzyskanie grantu tego typu oznacza budowanie własnego zespołu przez samodzielnego badacza, co koreluje z procedurą habilitacyjną. Temat grantu to : *Badanie mechanizmów wrodzonej infekcji wirusem cytomegalii - replikacji, rozprzestrzeniania się oraz ustalania latencji*” co oznacza kontynuację zainteresowań badawczych Dr Weidner-Glunde na nowym modelu wirusowym. Poprzednie projekty badawcze , w których uczestniczyła dr Weidner-Glunde jako główny wykonawca, były realizowane w Niemczech w oparciu o finansowanie z 6 Programu Ramowego EU i German Research Association (DFG).

Inne aspekty działalności naukowej dr Weidner-Glunde to recenzowanie artykułów dla takich międzynarodowych czasopism naukowych, jak *Microorganisms* , *Viruses*, *Cancers*, *Veterinary Sciences*. Wielokrotnie brała udział w panelach eksperckich oceniających wnioski grantowe w NCN.

3. Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej.

Dr Weidner- Glunde prowadziła w trakcie swojej pracy różnego typu zajęcia dydaktyczne. Podczas pracy w Niemczech były to seminaria z magistrantami kierunków Biomedycyny i Biochemii oraz zajęcia z doktorantami. W Polsce prowadzi wykłady (w. jęz. angielskim) na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim, z zakresu podstaw wirusologii, biologii molekularnej i genetyki oraz wykłady o wirusach onkogennych. Ma także doświadczenie jako opiekun prac magisterskich i doktorskich w zespole niemieckim. Obecnie jest promotorką jednego doktoratu, który ma być wkrótce ukończony, w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności.

W ramach działalności popularyzatorskiej Dr Weidner-Glunde zaangażowała się w akcje informacyjną w okresie pandemii koronawirusa, prowadząc wykłady o charakterze popularno- naukowym , takie jak: wykład „SARS-CoV-2 – co już wiemy?” w ramach Wszechnicy PAN (2020) i wykład: „Na tropach SARS-CoV-2” w ramach konferencji ‘Pandemia COVID-19 - koniec początku czy początek końca?’ w Olsztynie.

W czasie pobytu w Niemczech Dr Weidner-Glunde pracowała w międzynarodowym zespole, z którym podtrzymała kontakty , sądząc z ostatniej publikacji ze współautorami z Hanoweru, która ukazała się w 2020 r. Wcześniej współpracowała także z grupą prof. Paivi Ojala z University of Turku w Finlandii oraz z grupą prof. Petera Cherepanova z Imperial College London.

Po zapoznaniu się z bardzo starannie przygotowaną dokumentacją stwierdzam, że Dr Magdalena Weidner-Glunde spełnia warunki formalne by ubiegać się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Podsumowując, na podstawie analizy jej ogólnego dorobku naukowego oraz prac składających się na jej osiągnięcia badawcze, uważam, że osiągnięcia naukowe, całkowity dorobek naukowo-badawczy oraz dorobek dydaktyczny, organizacyjny i popularyzatorski dr Weidner-Glunde w pełni spełniają wymogi zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (DZ. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) i w związku z tym z pełnym przekonaniem pozytywnie opiniuję jej wniosek o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Wredner-Glunde