

dr hab. Barbara Uszczyńska-Ratajczak
Zakład Biologii Obliczeniowej Niekodującego RNA
Instytut Chemii Bioorganicznej
Polskiej Akademii Nauk
Noskowskiego 12/14
61-704 Poznań

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego oraz dorobku naukowego doktora Dawida Bielewicz

Merytoryczna ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Osiągnięcie habilitacyjne dra Dawida Bielewicz, zatytułowane „*Nowe mechanizmy biogenezy mikroRNA u Arabidopsis thaliana*”, obejmuje cykl czterech publikacji wraz z dołączonym autoreferatem. Trzy spośród tych publikacji zawierają wyniki oryginalnych badań naukowych, natomiast jedna ma charakter przeglądowy. Uwagę zwraca rozbieżność pomiędzy listą publikacji przedstawioną w autoreferacie a jego treścią. Rozbieżność ta została poprawiona w ramach korekty edytorskiej skierowanej do prof. Beaty Messyasz, Przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne na Wydziale Biologii UAM. W celu zachowania spójności z treścią autoreferatu oraz przejrzystości oceny merytorycznej, poniżej przedstawiam poprawiony i uporządkowany wykaz publikacji faktycznie wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego:

- P1. **Dawid Bielewicz**, Jakub Dolata, Mateusz Bajczyk, Lukasz Szewc, Tomasz Gulanicz, Susheel S Bhat, Anna Karlik, Monika Jozwiak, Artur Jarmolowski, Zofia Szweykowska-Kulinska, *Hyponastic Leaves 1 interacts with RNA Pol II to ensure proper transcription of microRNA genes*, Plant and Cell Physiology, 2023
- P2. Susheel Sagar Bhat*, **Dawid Bielewicz***, Tomasz Gulanicz, Zsuzsanna Bodi, Xiang Yu, Stephen J Anderson, Lukasz Szewc, Mateusz Bajczyk, Jakub Dolata, Natalia Grzelak, Dariusz J Smolinski, Brian D Gregory, Rupert G Fray, Artur Jarmolowski, Zofia Szweykowska-Kulinska, *mRNA adenosine methylase (MTA) deposits m6A on pri-miRNAs to modulate miRNA biogenesis in Arabidopsis thaliana*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020
- P3. Jakub Dolata, Michał Taube, Mateusz Bajczyk, Artur Jarmolowski, Zofia Szweykowska-Kulinska#, **Dawid Bielewicz#**, *Regulation of plant microprocessor function in shaping microRNA landscape*, Mini review, Frontiers in Plant Science, 2018
- P4. Agata Stepien, Jakub Dolata, Tomasz Gulanicz, **Dawid Bielewicz**, Mateusz Bajczyk, Dariusz J Smolinski, Zofia Szweykowska-Kulinska, Artur Jarmolowski, *Chromatin-associated microprocessor assembly is regulated by the U1 snRNP auxiliary protein PRP40*, The Plant Cell, 2022

Oceniane publikacje ukazały się w latach 2018–2023 w uznanych czasopismach o międzynarodowym zasięgu, w tym w prestiżowych tytułach takich jak *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* oraz *The Plant Cell*.

Centralnym elementem osiągnięcia habilitacyjnego było określenie funkcji białka Hyponastic Leaves 1 (HYL1), kluczowego składnika kompleksu Mikroprocesor, w procesie dojrzewania mikroRNA, ze szczególnym uwzględnieniem jego roli w regulacji transkrypcji genów miRNA (*publikacja P1*). Badania

wykazały, że HYL1 nie tylko wspomaga transkrypcję genów miRNA, lecz także nawiązuje liczne interakcje z innymi białkami, w tym z czynnikami transkrypcyjnymi oraz polimerazą RNA II. Istotnym odkryciem było stwierdzenie, że HYL1 może wiązać się z promotorami genów miRNA i uczestniczyć w inicjacji transkrypcji zależnej od polimerazy RNA II. Interakcja z polimerazą RNA II zależy od stanu fosforylacji HYL1, co podkreśla znaczącą rolę modyfikacji potranslacyjnych w regulacji aktywności tego białka. Szerszy kontekst funkcjonalny działania kompleksu Mikroprocesora, a także regulacja jego podstawowych składników, białek Dicer-Like 1 (DCL1), SERRATE (SE) oraz HYL1, w procesie dojrzewania miRNA i rozwoju roślin, został szczegółowo przedstawiony w publikacji przeglądowej (publikacja P3).

Drugim zagadnieniem było określenie roli modyfikacji m⁶A (N⁶-metyloadenozyny) w metabolizmie prekursorów miRNA (publikacja P2). Przeprowadzone badania wykazały, że obecność m⁶A jest niezbędna dla prawidłowego dojrzewania mikroRNA u *Arabidopsis thaliana*. U hipomorficznych mutantów genu *MTA*, kodującego metylazę adenozynową odpowiedzialną za wprowadzanie modyfikacji m⁶A, zaobserwowano znaczące obniżenie poziomu dojrzałych mikroRNA przy równoczesnym wzroście ilości ich prekursorów, co świadczy o zaburzeniu procesu dojrzewania. Zastosowanie zaawansowanych technik, takich jak m⁶A-IP-seq, PIP-seq oraz immunoprecypitacja, potwierdziło, że prekursory miRNA są bezpośrednio metylowane przez MTA. Modyfikacja ta wpływa na ich strukturę drugorzędową oraz zdolność do interakcji z kompleksem Mikroprocesora, zwłaszcza z białkiem HYL1. Ponadto ustalono, że MTA oddziałuje z polimerazą RNA II, co wskazuje, że metylacja może zachodzić kotranskrypcyjnie. MTA wchodzi w interakcję także z białkiem TGH, które wspiera formowanie kompleksu Mikroprocesora. W mutantach *mta* oraz *tgh* zaobserwowano zaburzoną kolokalizację DCL1 i HYL1 z polimerazą RNA II, co negatywnie wpływa na efektywność dojrzewania miRNA. Wykazano także, że MTA reguluje poziom *miR393b*, genu istotnego dla odpowiedzi roślin na hormon auksynę. Zaburzenie poziomu m⁶A skutkowało osłabioną odpowiedzią na ten hormon. Ostatecznie badania te dowodzą, że modyfikacja m⁶A jest krytyczna dla strukturalnej integralności prekursorów miRNA, ich interakcji z białkami i efektywnej biogenezy funkcjonalnych miRNA.

Trzecim obszarem badań było poznanie mechanizmów biogenezy miRNA zachodzących równocześnie z procesem transkrypcji. W publikacji P4 opisano rolę białka PRP40 w kotranskrypcyjnym dojrzewaniu miRNA u *Arabidopsis thaliana*, ze szczególnym uwzględnieniem dwóch z trzech jego paralogów: *PRP40A* i *PRP40B*. Analiza trzeciego paralogu, *PRP40C*, była ograniczona ze względu na jego bliskie sąsiedztwo z *PRP40B* w genomie, co uniemożliwiło stworzenie potrójnego mutantu. W badaniach wykorzystano podwójnego mutantu *prp40a prp40b* (oznaczanego jako *prp40ab*). Na jego podstawie wykazano, że PRP40 pełni istotną funkcję w regulacji biogenezy miRNA poprzez wspomaganie rekrutacji białka SE, jednego z kluczowych składników kompleksu Mikroprocesora, do genów miRNA. Brak PRP40 prowadził do zaburzeń wiązania endorybonukleazy DCL1 z chromatyną, akumulacji polimerazy RNA II w obrębie genów miRNA oraz spowolnienia wzrostu roślin. Eksperymenty wykazały także, że PRP40 ułatwia tworzenie kompleksu SE–polimeraza RNA II, który jest niezbędny dla sprawnego kotranskrypcyjnego dojrzewania prekursorów miRNA, zwłaszcza tych przetwarzanych zgodnie ze schematem Loop-to-Base (LTB). Jednocześnie nie zaobserwowano wpływu PRP40 na inicjację transkrypcji, co wskazuje, że jego funkcja ogranicza się do późniejszych etapów tego procesu.

Podsumowując, osiągnięcie habilitacyjne dra Dawida Bielewicz stanowi istotny wkład w rozwój wiedzy na temat biogenezy mikroRNA u roślin. Przeprowadzone badania ukazują złożoność tego procesu oraz jego wielopoziomową regulację, od mechanizmów transkrypcyjnych, przez modyfikacje potranskrypcyjne kontrolujące interakcje z kompleksem Mikroprocesora, po elementy regulacji epigenetycznej. Uzyskane wyniki przyczyniły się do aktualizacji istniejących modeli biogenezy miRNA

w systemie roślinnym, a także uwidoczniły istotne różnice w przebiegu tego procesu między roślinami a zwierzętami.

Niemniej jednak mam pewne zastrzeżenia co do opisu osiągnięcia. Choć tematyka publikacji jest spójna, a zaprezentowane mechanizmy regulacji biogenezy miRNA mają wyraźnie złożony, wielowarstwowy charakter, wszystkie opisane elementy wydają się tworzyć funkcjonalnie powiązaną sieć. W związku z tym należałoby oczekiwać, że autor autoreferatu zaproponuje spójny model mechanistyczny integrujący te komponenty oraz odniesie się do ich potencjalnych interakcji i zależności, nawet jeśli miałyby one charakter hipotetyczny. Rozumiem, że rolę takiej syntetyzującej analizy mogła pełnić publikacja przeglądowa (*publikacja P3*), jednak ukazała się ona w 2018 roku, a więc przed publikacją większości kluczowych wyników składających się na oceniane osiągnięcie. Tym bardziej uzasadnione i cenne byłoby uzupełniające podsumowanie, które integrowałoby aktualny stan wiedzy i nadawało całości bardziej spójny oraz mechanistycznie osadzony kontekst.

Ocena dorobku naukowego

Dr Dawid Bielewicz rozpoczął swoją karierę akademicką na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, gdzie na Wydziale Biologii uzyskał tytuł licencjata w 2007 roku, a następnie tytuł magistra w 2009 roku. W 2015 roku obronił rozprawę doktorską pt. „*Transkrypcyjna i potranskrypcyjna regulacja biogenezy mikroRNA u Arabidopsis thaliana*”, przygotowaną pod opieką wybitnych ekspertów: prof. Zofii Szweykowskiej-Kulińskiej z Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza oraz dr Francka Vazqueza z Uniwersytetu w Bazylei. Wyniki uzyskane w ramach pracy doktorskiej zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie *EMBO Reports* (2013) w artykule Bielewicz i wsp., „*Introns of plant pri-miRNA enhance miRNA biogenesis*”. Publikacja ta w interesujący sposób przedstawia wpływ efektywności splicingu na proces biogenezy miRNA u roślin. Podczas studiów doktoranckich dr Bielewicz opublikował jeszcze osiem prac naukowych, w tym jako pierwszy autor artykuł w *Nucleic Acids Research* (2011). Wszystkie prace dotyczyły biologii miRNA u roślin.

Po uzyskaniu stopnia doktora w 2015 roku, dr Dawid Bielewicz odbył roczny staż podoktorski na Uniwersytecie w Bielefeld, gdzie pracował w zespole badawczym prof. Dorothee Staiger. Pod koniec 2016 roku powrócił do Polski i objął stanowisko adiunkta, jednocześnie rozpoczynając realizację projektu SONATA, którego celem było zbadanie roli białka HYL1 w metabolizmie RNA. Od 2023 roku kieruje projektem OPUS, poświęconym analizie wpływu modyfikacji potranslacyjnych białka HYL1 na rozwój roślin. Efektem prowadzonych badań są liczne publikacje, w tym artykuły przeglądowe i preprinty, koncentrujące się głównie na zagadnieniach związanych z przetwarzaniem RNA u roślin. Według danych Google Scholar, łączna liczba cytowań jego publikacji wynosi obecnie 1,594, co świadczy o dużym znaczeniu jego dorobku naukowego dla rozwoju tej dziedziny.

Dr Bielewicz został również uhonorowany kilkoma wyróżnieniami, w tym stypendium Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w 2016 roku oraz indywidualną nagrodą Rektora Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w 2023 roku za wybitne osiągnięcia naukowe.

Analiza dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i współpracy międzynarodowej

Przedstawiona dokumentacja wskazuje na bogaty dorobek dydaktyczny, charakterystyczny dla pracowników akademickich. Dr Bielewicz od 2017 roku aktywnie prowadzi zajęcia z zakresu biochemii, genetyki molekularnej oraz regulacji procesów komórkowych. Ponadto pełni funkcję koordynatora dwóch kursów: (1) technik analizy kwasów nukleinowych i białek oraz (2) wykorzystania organizmów zmodyfikowanych genetycznie w celach produkcyjnych. Angażuje się także w prace komisji

odpowiedzialnej za opracowanie nowego programu studiów dla kierunku biotechnologia. Aktywność ta została doceniona zespołową nagrodą Rektora w 2023 roku. Dr Bielewicz koncentruje się również na indywidualnym kształceniu studentów i młodych naukowców, pełniąc opiekę nad magistrantem, doktorantem oraz postdokiem zatrudnionymi w ramach kierowanego przez siebie projektu OPUS. W przeszłości był promotorem dwóch prac magisterskich oraz współpromotorem jednej pracy doktorskiej.

Szczególnie doceniam zaangażowanie w popularyzację nauki wśród młodzieży i dzieci, które miały okazję poznać działalność Uniwersytetu podczas „Dni Akademickich”, otrzymać wsparcie merytoryczne w przygotowaniach do ogólnopolskiej olimpiady biologicznej oraz uczestniczyć w interaktywnych pokazach naukowych. Od 2022 roku dr Bielewicz pełni rolę przedstawiciela konsorcjum RNA Research Center w ramach współpracy między Instytutem Biologii Molekularnej i Biotechnologii UAM a Instytutem Chemii Bioorganicznej PAN, gdzie angażuje się w organizację RNA Collaborative Seminars (działalność RNA Society).

Współpraca międzynarodowa stanowi istotny element rozwoju kariery dr Bielewicza. Po powrocie ze stażu podoktorskiego Habilitant nawiązał nowe kontakty naukowe, w tym odbył trzymiesięczny staż w laboratorium dr Cecile Bousquet-Antonelli na Uniwersytecie w Perpignan w ramach programu EMBO Scientific Exchange. Ta współpraca jest kontynuowana dzięki 12-miesięcznemu stypendium Mieczysława Bekkera (NAWA), realizowanemu w Instytucie Biologii Molekularnej Roślin (IBMP) w Strasburgu. Ponadto dr Bielewicz odbył miesięczny staż w Umea Plant Science Center, pracując w grupie Petera Kindrena. Publikacje będące efektem tych współprac są obecnie w przygotowaniu.

Wniosek końcowy

Przedstawione osiągnięcie habilitacyjne oraz cały dorobek naukowy dra Dawida Bielewicza oceniam pozytywnie. Nie mam wątpliwości, że dr Bielewicz jest dojrzałym i samodzielny naukowcem, który skutecznie realizuje własne pomysły badawcze. Autoreferat cechuje się pewnym brakiem przejrzystości oraz zawiera drobne błędy stylistyczne, jednak nie podejmuję się ich oceny, ponieważ nie wpływają one na wartość merytoryczną pracy.

Podsumowując moją ocenę osiągnięcia habilitacyjnego oraz dorobku naukowego dra Dawida Bielewicza, stwierdzam, że spełniają one wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego, określone obowiązującymi przepisami.

Poznań, 26 maja 2025 r.

Barbara Uszczyńska-Ratajczak