

Prof. dr hab. Anna Herman-Antosiewicz
Katedra Biologii i Genetyki Medycznej
Wydział Biologii Uniwersytetu Gdańskiego
ul. W. Stwosza 59
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 1 lutego 2024 r.

Recenzja osiągnięcia naukowego

Pana dr. Savaniego Anbalagana w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne

Wykształcenie i praca zawodowa Habilitanta

Dr Savani Anbalagan ukończył studia (zintegrowany program studiów licencjackich i magisterskich) w Uniwersytecie SASTRA w Thanjavur (Indie) w 2009 r., uzyskując tytuł magistra technologii w dziedzinie biotechnologii przemysłowej (praca magisterska pt: *Ag43 – a model for bacterial amyloid*, promotor: prof. Daniel Otzen, Zakład Biologii Molekularnej, Uniwersytet Aarhus, Aarhus w Danii). Stopień doktora w dziedzinie biotechnologii przemysłowej uzyskał w 2012 r. na Wydziale Biotechnologii i Nauk Biologicznych Uniwersytetu Milano-Bicocca w Mediolanie na podstawie rozprawy pt. *Role of Rif1 and Rif2 in telomere capping of Saccharomyces cerevisiae* (promotor: prof. Maria Pia Longhese). Po obronie doktoratu pracował 7 lat w Instytucie Nauki Weizmanna w Rehovot w Izraelu jako postdoc, następnie starszy stażysta w zespole prof. Gila Levkowitz. Następnie przez kilkanaście miesięcy był zatrudniony w Centrum Nowych Technologii Uniwersytetu Warszawskiego, a od października 2020 r. pracuje na etacie adiunkta naukowo-dydaktycznego w Instytucie Biologii Molekularnej i Biotechnologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Ocena osiągnięcia naukowego przedstawionego jako cykl powiązanych tematycznie artykułów oraz całokształtu działalności naukowej

Dr Anbalagan jako osiągnięcie naukowe przedstawił cykl 7 publikacji (6 oryginalnych i 1 przeglądowa) pod wspólnym tytułem *Analiza molekularna i genetyczna tylnego płata przysadki mózgowej w organizmie modelowym kręgowca - danio pręgowanego* (ang. *Molecular and genetic analyses of neurohypophysis in vertebrate model organism – zebrafish*). Prace te zostały opublikowane w latach 2018-2023.

Są to następujące artykuły:

1. **Anbalagan S**, Gordon L, Blechman J, Matsuoka RL, Rajamannar P, Wircer E, Biran J, Reuveny A, Leshkowitz D, Stainier DYR, Levkowitz G. Pituitary cues regulate the development of permeable neuro-vascular interfaces. *Dev Cell*. 2018; 7(6):711-726.e5.
IF₂₀₁₈ = 9,19; punkty MNiSW = 200; cytowane 25 razy (wg WoS z czerwca 2023)
2. Blechman J, **Anbalagan S**, Matthews GG, Levkowitz G. Genome editing reveals idiosyncrasy of CNGA2 ion channel-directed antibody immunoreactivity toward oxytocin. *Front Cell Dev Biol*. 2018; 6:117.
IF₂₀₁₈ = 5,21; punkty MNiSW = 70; cytowane 5 razy
3. **Anbalagan S**, Blechman J, Gliksberg M, Gordon L, Rotkopf R, Dadosh T, Shimoni E, Levkowitz G. Robo2 regulates synaptic oxytocin content by affecting actin dynamics. *Elife*. 2019; 8. pii: e45650.
IF₂₀₁₉ = 7,08; punkty MNiSW = 200; cytowane 6 razy
4. Nunes AR, Carreira L, **Anbalagan S**, Blechman J, Levkowitz G, Oliveira RF. Perceptual mechanisms of social affiliation in zebrafish. *Sci Rep*. 2020; 10(1):3642.
IF₂₀₂₀ = 4,38; punkty MNiSW = 140; cytowane 17 razy
5. Swaminathan A, Gliksberg M, Wigoda N, **Anbalagan S**, Levkowitz G. Stress resilience is established during development and is regulated by complement factors. *Cell Rep*. 2023
IF₂₀₂₁ = 9,99; MNiSW pt. = 200; cytowane 1 raz
6. Chodkowski M, Zielesinski A, **Anbalagan S**. A ligand-receptor interactome atlas of the zebrafish. *iScience*. 2023
IF₂₀₂₂ = 5,8; punkty MNiSW = 20; brak cytowań
7. **Anbalagan S**. Endocrine crosstalk between the gut microbiome and glial cells in development and disease. *J. Neuroendocrinology*. 2021; 33(5):e12924.
IF₂₀₂₁ = 3,87; punkty MNiSW = 100; cytowane 1 raz

Prace eksperymentalne są wieloautorskie, a dr Anbalagan jest pierwszym autorem w 4 publikacjach (w tym w 2 korespondującym), a w pozostałych jest drugim, trzecim lub czwartym autorem. Z załączonych w dokumentacji oświadczeń wynika, że Habilitant miał wiodący udział w powstaniu prac 1, 3, 6 i 7, zarówno podczas fazy koncepcyjnej, jak i w wykonaniu eksperymentów, analizie wyników oraz przygotowaniu manuskryptów. W pracach 2, 3 i 4 zostały wykorzystane techniki mutagenyzy i genotypowania opracowane i zoptymalizowane przez Niego (praca 2) lub linie danio ze zmutowanymi genami *oxtra* lub *miR218a-1* skonstruowane przez dr. Anbalagana (prace 3 i 4). Sumaryczny IF dla tego cyklu wynosi 45,52, a suma punktów ministerialnych – 930. Już te parametry świadczą o wysokiej randze tych artykułów. Dodatkowo, były one cytowane 54 razy (nie wliczając autocytowań), co na tak krótki czas obiegu świadczy o sporym zainteresowaniu prezentowaną tematyką.

Habilitant wraz ze współpracownikami badał układ podwzgórzowo-neuroprzysadkowy na modelu dania pręgowanego (*Danio rerio*), głównie zaś podłoże molekularne rozwoju i funkcjonowania neuroprzysadki oraz sygnalizację między komórkami budującymi ten organ (pituicyty gleju, komórki śródbłonna, neurony oksytocyny). Poniżej przedstawiam najważniejsze według mnie dokonania udokumentowane w prezentowanym osiągnięciu:

1. badając podłoże przepuszczalności śródbłonek naczyń w obrębie neuroprzysadki, co odróżnia te naczynia od innych w mózgu (stanowiących o barierze krew-mózg), odkryto, że odpowiadają za to pituicyty gleju, które poprzez wydzielanie czynników Vegfa, Tgf β 3 i Cyp26b1, regulują morfogenezę naczyń oraz połączenia międzykomórkowe. Stwierdzono, że Vegf i Tgf β zwiększają produkcję PLVAP i przepuszczalność naczyń. Z kolei Cyp26b hamuje tworzenie połączeń ścisłych przez obniżenie poziomu kładyny 5. Co ciekawe, opisany mechanizm zwiększonej przepuszczalności naczyń jest podobny jak w stanach zapalnych i badania te mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia podłoża zjawisk patologicznych, np. w ostrym niedotlenieniu mózgu, chorobach neurodegeneracyjnych lub nowotworowych mózgu (publikacja 1);

2. badając podłoże regulacji poziomu i uwalniania neuropeptydów w synapsach aksonów oksytocyny w neuroprzysadce, odkryto szlak sygnalizacyjny za to odpowiedzialny, tj. Slit3-Robo2-Cdc42. Reguluje on dynamikę aktyny, co z kolei wpływa na poziom oksytocyny w pęcherzykach synaps. Przy okazji zobrazowano strukturę zbudowaną z włókien aktyny i związaną z pęcherzykami synaptycznymi w neuroprzysadce danio (publikacja 3);

3. analiza transkryptomu pituicytów pozwoliła wytypować do dalszych badań geny zaangażowane w rozwój przysadki. Ponieważ do badania ich funkcji i znaczenia konieczne było uzyskanie odpowiednich mutantów, opracowano metody otrzymywania i walidacji modeli *in vivo* z mutacjami typu knockout w wielu z tych genów (np. *slit3*, *oxtra*, *oxt*, *robo-2*). To z kolei przyczyniło się do uzyskania ważnych wyników i wniosków przez zespoły współpracujące z Habilitatem, jak:

- potrzebę badania immunoreaktywności przeciwciał *in vivo* w mutantach pozbawionych genów kodujących dane białko. W badaniach nad rolą CNGA2a w modulacji aktywności neuronów testowano przeciwciało mające wykrywać ten kanał. O ile *in vitro* wykrywało ono specyficznie CNGA2, to *in vivo* okazało się dawać sygnał w osobnikach bez funkcjonalnych genów *cnga2a/b*. Dzięki użyciu osobników z mutacjami w gene *oxt* i porównaniu z osobnikami typu wt wykazano, że przeciwciało to wykrywa oksytocynę, a więc cechuje je reaktywność krzyżowa (publikacja 2).

- odkrycie dodatkowych funkcji sygnalizacji z udziałem oksytocyny, tzn., że receptor oksytocyny jest istotny dla postrzegania innych osobników tego gatunku na podstawie sposobu ich poruszania się a nie kształtu. Badania behawioralne bazujące na użyciu odpowiednich mutantów wykonane były z zespołem z Portugalii (publikacja 4);

- odkrycie, że odporność na stres kształtuje się na wczesnych etapach rozwoju osobniczego i jest dziedziczona. Mają na nią wpływ poziom neuropeptydu Y i miR218 oraz składniki układu dopełniacza wrodzonej odpowiedzi immunologicznej (publikacja 5);

4. utworzenie poszerzonego repozytorium ligandów i błonowych receptorów danio pręgowanego (dzięki m.in. zastosowaniu algorytmu głębokiego uczenia do analizy referencyjnego proteomu) oraz skonstruowanie bioinformatycznego narzędzia do analizy oddziaływań receptor-ligand, bazując na danych -omicznych (DanioTalk w otwartym dostępie). Zostało ono z sukcesem przetestowane, min. bazując na

danych transkryptomycznych, znaleziono nowe potencjalne interakcje ligand-receptor między pituicytami a aksonami neuronów oksytocyny (publikacja 6). Narzędzie to może być pomocne w szukaniu takich oddziaływań w innych organizmach.

5. przedstawienie w formie przeglądowej obecnego stanu wiedzy na temat wpływu metabolitów mikrobiomu jelitowego na komórki glejowe w stanach fizjologicznych i patologicznych (praca 7).

W pracach eksperymentalnych na uwagę zasługuje biegłość Habilitanta w technikach biologii molekularnej, szczególnie mutagenyzy przy użyciu różnych narzędzi (np. TALEN, CRISPR/CAS9), obrazowania z użyciem różnego typu mikroskopów oraz z zastosowaniem wielu metod znakowania (immunologiczne, geny reporterowe, barwniki fluorescencyjne) a także w wykorzystaniu technik bioinformatycznych. Wyniki tych prac są tym bardziej przekonujące, że badania funkcji białek przeprowadzono zarówno poprzez genetyczne jak i farmakologiczne ich hamowanie. Dr Anbalagan jest niewątpliwie ekspertem w zakresie biologii i neurobiologii oraz genetyki danio pręgowanego.

Nie mam wątpliwości co do spełnienia wymagania określonego w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce mówiący o tym, że osiągnięcie naukowe ma stanowić znaczący wkład w rozwój dyscypliny.

Poza pracami składającymi się na osiągnięcie naukowe dr Anbalagan jest współautorem 6 publikacji, z czego 4 powstały przed obroną doktoratu i są opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym (dwie w *Plos Genetics*, IF = 8,79 i 9,6; jedna w *EMBO J*, IF = 10,75, jedna we *Frontiers in Bioscience* IF = 3,3). Prace po obronie doktoratu dotyczą wpływu oksytocyny na zachowania społeczne danio i opublikowane są w *Journal of Neuroendocrinology* (IF = 3,28) i *Elife* (IF = 8,14) w 2020 r.

Parametry bibliometryczne **całego dorobku** publikacyjnego Habilitanta to **1960 punktów ministerialnych i IF = 89,56**, przy czym IF prac powstałych przed doktoratem wynosi 32,27, a po doktoracie – 57,39. Prace, których Habilitant jest współautorem były cytowane 225 razy (nie wliczając autocytowań), a **indeks Hirscha wynosi 8** (wg Web of Science Core Collection w momencie przygotowania dokumentacji). Swoje wyniki prezentował podczas licznych wystąpień ustnych lub w formie plakatów, ale z autoreferatu wynika, że większość nie dotyczyła konferencji, a została przygotowana na zaproszenie jednostek naukowych oraz stowarzyszeń danio pręgowanego w Polsce lub za granicą.

Dr Anbalagan obecnie kieruje 2 projektami, tj. „Rola interakcji akson-glej, w której pośredniczy Sfrp5 w morfogenezie aksonów danio pręgowanego podwzgórzowo-przysadkowa” (NCN Sonata bis, 2021-26) i „Rola intronowego mikroRNA indukowanego oligonukleotydem antysensownym w morfogenezie aksonów u danio pręgowanego” (NCN Sonata, 2022-25). Był beneficjentem grantów Izraelskiej Fundacji Nauki i Stypendium M. Skłodowska-Curie na pobyty naukowe odpowiednio w Izraelu i we Włoszech.

Habilitant od 2019 r. jest członkiem Polskiego Towarzystwa Danio Pręgowanego, Polskiego Towarzystwa Neurobiologicznego, Federacji Europejskich Towarzystw Neuronaukowych, Międzynarodowej Organizacji Badań Mózgu. Odbił szkolenie organizowane przez EMBO (EMBO Laboratory Leadership Course for Postdocs) w Heidelbergu. Oceniał wnioski na finansowanie podróży złożone do Polskiego Towarzystwa Danio Pręgowanego.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę całokształt dorobku dr. Savaniego Anbalagana, uważam, że **spełnia On wymogi stawiane do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w Ustawie z dn. 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 ze zm.).**

W związku z tym wnioskuję do Rady naukowej dyscypliny nauki biologiczne Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o nadanie dr. Savanemu Anbalaganowi stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Anna Klemen-Ambicwin