

**Recenzja wniosku habilitacyjnego  
z dnia 25.08.2023 r.  
Pana doktora Andrzeja Zielezińskiego**

Pan Andrzej Zieleziński uzyskał stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia w roku 2014. Stopień ten nadany został przez Radę Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Promotorem rozprawy był Pan prof. dr hab. Wojciech Karłowski. Tytuł rozprawy: „Identyfikacja domen WG/GW zaangażowanych w wiązanie białek Argonaute oraz analiza mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za ich zmienność”. Obecnie Kandydat ubiega się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Postępowanie habilitacyjne prowadzone jest przez Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Pan dr Andrzej Zieleziński przedstawił kompletny wniosek habilitacyjny wraz z wymaganymi załącznikami. Wśród osiągnięć naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (zwanej dalej Ustawą - Dz. U. 2018 poz. 1668, z późniejszymi zmianami), wyodrębniony został cykl publikacji, zatytułowany „Innowacyjne metody porównywania sekwencji w genomice porównawczej oraz w przewidywaniu interakcji między wirusami”. Cykl ten spełnia warunki formalne wskazane w Ustawie. Na podstawie powyższego stwierdzam, że wniosek jest przygotowany poprawnie pod względem formalnym.

***Ocena osiągnięcia naukowego, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy***

Jako osiągnięcie naukowe, Pan dr Andrzej Zieleziński przedstawił wyniki badań opublikowane w latach 2017-2022 w cyklu 4 powiązanych tematycznie artykułów, które ukazały się w międzynarodowych czasopismach naukowych. Sumaryczny Impact Factor publikacji będących podstawą osiągnięcia w/g bazy

Journal Citation Reports jest wysoki i wynosi 38,382. Prace są bardzo dobrze cytowane w/g bazy Scopus 370 razy a w/g Web of Science 625 razy. W 4 publikacjach Kandydat jest pierwszym autorem a w 2 również autorem korespondującym. Zatytułował ten cykl „Innowacyjne metody porównywania sekwencji w genomice porównawczej oraz w przewidywaniu interakcji między wirusami”. Większość badań zamieszczonych w publikacjach składających się na osiągnięcie była realizowana w ramach grantu SONATA Narodowego Centrum Nauki. Tytuł osiągnięcia jest trafny, gdyż faktycznie Kandydat zaproponował nowe metody porównywania sekwencji genomów, które wykorzystał do przewidywania oddziaływań pomiędzy bakteriami i wirusami.

Tematyka badawcza Habilitanta jest bardzo aktualna i ważna z punktu widzenia badań molekularnych, ewolucyjnych, przewidywania funkcji genów, identyfikacji mikroorganizmów w badaniach metagenomowych oraz prognozowania oddziaływań pomiędzy wirusami a mikroorganizmami. W momencie lawinowego rozwoju terapii bakteriofagami i poszukiwania fagów na szeroką skalę, proces prognozowania potencjalnych oddziaływań pomiędzy fagami a bakteriami nabiera praktycznego znaczenia.

Celem badań Habilitanta było:

1. Systematyczne zestawienie metod AF (alignment-free methods) oraz ocena ich przydatności w różnych zastosowaniach genomiki porównawczej,
2. Opracowanie i zastosowanie metod, które pozwoliłyby na wiarygodne przewidywanie interakcji fag-bakteria na podstawie analizy ich sekwencji genomowych.

Na początku analizy ocenianego cyklu publikacji warto zaznaczyć, że Pan dr Andrzej Zieleziński jest wiodącym autorem we wszystkich pracach składających się na ten cykl. Potwierdza to Jego pozycja na liście autorów (w dwóch publikacjach pełnił rolę autora korespondującego), jak i treść oświadczeń współautorów. W dwóch publikacjach Habilitant uczestniczył w opracowaniu koncepcji badań, a w dwóch opracował ją samodzielnie. Dodatkowo opracował plan manuskryptu, wykonał wszystkie rysunki, tabele i materiały dodatkowe, analizował i interpretował wyniki, opracował i oszacował procedury metody AF, PHIST i Phirbo. Stworzył aplikację internetową AFproject. Przygotował robocze i ostateczne wersje manuskryptu. Wszystkie wymienione przez Habilitanta czynności pozwalają mi na stwierdzenie, że odegrał on wiodącą rolę w powstaniu wszystkich manuskryptów włączonych do osiągnięcia.

Przedstawiony cykl artykułów obejmuje trzy główne zagadnienia badawcze.



Pierwszą pracą wchodzącą w skład osiągnięcia jest publikacja wydana w *Genome Biology* w roku 2017 (o IF w momencie publikacji wynoszącym 13,214), w której Habilitant jest pierwszym autorem. Jest to praca przeglądowa ale zawiera również oryginalne wyniki badań, w której Kandydat przedstawił:

1. zasady działania metod AF i korzyści wynikające z ich zastosowania;
2. katalog dostępnych narzędzi AF z podziałem na podstawowe zadania badawcze związane z analizą danych pochodzących z sekwencjonowania nowej generacji i genomiką porównawczą;
3. opracowaną aplikację internetową Alfree, która integruje 38 metod AF w celu wyznaczenia podobieństwa między sekwencjami; aplikacja ta pozwala użytkownikowi na podanie sekwencji nukleotydowych bądź białkowych w formie FASTA i wybór dowolnej kombinacji metod a wyniki są prezentowane w formie drzewa filogenetycznego, które podsumowuje zgodność między poszczególnymi drzewami uzyskanymi z wykorzystaniem wybranych metod AF;
4. oprogramowanie Alfree, służące do analiz dużych zestawów sekwencji, które zostało udostępnione w formie narzędzia alfpy;
5. wyniki testowania metody AF w celu identyfikacji odległych homologów białek, które zachowywały wysokie podobieństwo strukturalne i funkcjonalne mimo niskiej identyczności sekwencji; okazało się, że niektóre metody AF uzyskały wyższą jakość klasyfikacji białek niż algorytm przyrównania sekwencji Smitha-Watermana a metoda dystans Google była dokładniejsza i 800-krotnie szybsza.

Liczba cytowań tej publikacji w/g *Scopus* wynosi 255 a *Google Scholar* 441, a oprogramowanie/narzędzie wykorzystano dotychczas ponad 50 000 użytkowników, co może świadczyć o jego wielkiej użyteczności ale i wiarygodności.

Druga publikacja wchodząca w skład osiągnięcia została opublikowana również w *Genome Biology* w 2019 roku o IF=10,866. Praca ta jest cytowana w/g *Scopus* 101 razy a *Google Scholar* 160. Jest to eksperymentalna, wieloautorska (autorzy z 10 czołowych ośrodków naukowych specjalizujących się w rozwoju metod AF) publikacja, w której dr Zieleziński jest pierwszym autorem. W publikacji tej przedstawiono procedurę testowania metod AF wraz z 12 referencyjnymi zestawami sekwencji. Zestawy te pozwoliły na ocenę metod AF w pięciu obszarach genomiki porównawczej a mianowicie: identyfikacji sekwencji regulatorowych o podobnej funkcji, wykrywania relacji filogenetycznych w obrębie różnych rodzin genów, klasyfikacji sekwencji

białek o wysokim i niskim poziomie identyczności, filogenezie genów na podstawie kompletnych złożeń sekwencji genomowych, filogenezie sekwencji genomowych o różnej częstotliwości rekombinacji i horyzontalnego transferu genów. W pracy tej przetestowano łącznie 74 metody AF zawarte w 24 narzędziach, w tym również metody zawarte w oprogramowaniu Alfree/alfpy, co skutkowało wykonaniem ponad miliarda porównań par sekwencji. Skonstruowane przez Habilitanta oprogramowanie Alfree było najbardziej skuteczne w identyfikacji podobnych funkcjonalnie sekwencji regulatorowych genów z wynikiem 70% (co było o 10% lepszym wynikiem niż testowane konkurencyjne programy). W ramach tego artykułu dr Zieleziński opracował ogólnodostępną aplikację AFproject, która dostarcza referencyjne zestawy sekwencji i prezentuje wyniki przeprowadzonych testów oraz oferuje testy online dla nowo tworzonych narzędzi AF. Od 2019 roku kiedy opublikowano artykuł, wygenerowano ponad 1000 raportów testowych nowych narzędzi AF z czego 15 z nich, za zgodą autorów, zostało włączonych do publicznego katalogu. Największą nagrodą dla twórców takich narzędzi jest fakt, że są często używane i są wiarygodne.

Trzecia publikacja osiągnięcia „*Taxonomie-aware, sequence similarity ranking reliably predicts phage-host relationships*” została opublikowana w 2021 roku w *BMC Biology* o IF=7,431, cytowana była w/g bazy *Scopus* 9 razy, gdzie Habilitant jest pierwszym autorem oraz współautorem korespondującym. W związku z intensywnie rozwijającą się terapią bakteriofagami zarówno ludzi jak i zwierząt oraz biologią molekularną bakteriofagów (wykorzystywane jako nośniki leków czy przeciwciał czyli w farmaceutyce czy w diagnostyce molekularnej) czy określeniem roli tych wirusów w różnych ekosystemach, bardzo przydatnym stałoby się przewidywanie oddziaływań pomiędzy bakteriofagami a bakteriami za pomoc metod obliczeniowych. Dostępne programy, obejmujące zarówno metody AF jak i algorytmy przyrównania sekwencji typują potencjalnych gospodarzy dla bakteriofagów z niską (BLAST z 35%) wiarygodnością. W roku 2021 Pan dr Andrzej Zieleziński opracował algorytm Phirbo, który pozwala na typowanie gospodarzy bakteriofagów na podstawie automatycznej analizy statystycznej przyrównań sekwencji otrzymanych w programie BLAST. Algorytm ten znajduje powiązanie między bakterią a fagiem w oparciu o pośrednie porównanie ich sekwencji genomowych do sekwencji innych bakterii. Dzięki temu algorytm Phirbo rozszerza zakres informacji zawarty w pojedynczym przyrównaniu fag-bakteria, uwzględniając również informacje z innych statystycznie istotnych przyrównań sekwencji faga z innymi bakteriami. Program



ten identyfikuje genom bakterii o największym podobieństwie do genomu faga ale uwzględnia również aspekt taksonomiczny bakterii jak i informacje z porównania sekwencji spokrewnionych bakterii i wirusów. Habilitant przeprowadził walidację programu Phirbo z dwoma zestawami fagów i wirusów, których interakcje były doświadczalnie udowodnione. Wyniki testów udowodniły, że program ten był skuteczniejszy w przewidywaniu oddziaływań fag-bakteria w porównaniu do programu BLAST oraz WISH. Program Phirbo poprawnie identyfikował bakteryjnego gospodarza na poziomie gatunku z skutecznością 50% a co do rodzaju z 60%, co oznaczało poprawę w stosunku do dwóch testowanych narzędzi czyli BLAST i WISH a nawet programów opartych na maszynowym uczeniu.

Ostatnią publikacją wchodzącą w skład osiągnięcia Habilitanta jest praca opublikowana w *Bioinformatics* w roku 2022 o IF=6,931, zatytułowaną „*PHIST: fast and accurate prediction of prokaryotic hosts from metagenomic viral sequences*”. Pan dr Zieleziński opracował kolejną metodę AF przewidywania interakcji fag-bakteria, która opiera się na wyznaczeniu lokalnego podobieństwa między sekwencją genomową wirusa i gospodarza. Metoda ta łączy wirusy z gospodarzami na podstawie całkowitej liczby relatywnie długich (21-25 nukleotydów), dokładnie powtórzonych k-merów współdzielonych między ich sekwencjami. Metoda ta informuje również o istotności statystycznej każdej znalezionej pary fag-bakteria biorąc pod uwagę długość obu genomów. We współpracy z grupą badawczą z Wydziału Automatyki, Elektroniki i Informatyki Politechniki Śląskiej, Kandydat stworzył narzędzie PHIST. Na podkreślenie zasługuje fakt, że jest ono ogólnodostępne. Program ten opiera się w obliczeniach na genomach wirusów i bakterii. W rezultacie typowany jest najbardziej prawdopodobny gospodarz a także ewentualne inne genomy bakterii, które spełniają kryteria statystyczne określone przez użytkownika. Program ten przetestowano na trzech zestawach fagów i bakterii o sprawdzonej laboratoryjnie interakcji. Habilitant wykazał, że program PHIST osiągnął przewagę w jakości przewidywań nad wiodącymi programami opartymi na przyrównywaniu sekwencji. Wyniki testów wykazały, że program potrafi rozpoznać podobieństwo sekwencji genomowych fag-bakteria na różnych poziomach tzn. globalnego podobieństwa składu oligonukleotydów, lokalnych przyrównań sekwencji średniej długości a także bardzo krótkich sekwencji CRISPER. Program PHIST miał najkrótszy czas działania i niskie zużycie pamięci operacyjnej RAM spośród wszystkich testowanych programów. Przetworzył on zbiór danych zawierających 2,3 tys. genomów wirusów oraz 62,5 tys. bakterii na średniej klasy stacji roboczej



w mniej niż godzinę, co było działaniem prawie 300-krotnie szybszym od programów BLAST i Phirbo. Sprawność tego programu przetestowano podczas poszukiwania gospodarzy dla 190 tys. metagenomów wirusowych z ludzkiego jelita spośród 287 tys. metagenomów bakterii i archeonów z układu pokarmowego człowieka. PHIST ukończył zadanie w ciągu trzech i pół godziny i wskazał gospodarzy dla 99,5% wirusów. Program ten wykorzystano również do poszukiwań gospodarzy dla 15 milionów genomów bakteriofagów w najnowszej bazie danych metagenomów wirusów.

Podsumowując, po zapoznaniu się z publikacjami składającymi się na osiągnięcie Pana dr Andrzeja Zielezińskiego pozostaje mi tylko pogratulować tak znamienitego osiągnięcia i stwierdzić, że stanowi ono z całą pewnością doniosły wkład Habilitanta w rozwój nauk biologicznych.

### ***Ocena pozostałych osiągnięć naukowych***

Ponieważ wymogiem ustawowym dla Habilitantów jest posiadanie więcej niż jednego osiągnięcia naukowego, kluczowym jest stwierdzenie, czy Kandydat spełnia ten warunek. Pan dr Andrzej Zieleziński posiada w swoim dorobku oprócz prac wchodzących w skład głównego osiągnięcia, 26 prac oryginalnych oraz 2 rozdziały w monografii. Habilitant w autoreferacie jako dodatkowe osiągnięcie naukowe podaje jeszcze trzy inne zestawy publikacji: 1. Identyfikacja domen białkowych wiążących białka Argonaute w procesie interferencji RNA (3 publikacje); 2. Badanie relacji ewolucyjnych genów na podstawie analizy kodowanych przez nie białek (4 publikacje); 3. Rozwój baz danych i aplikacji internetowych związanych z biologią molekularną (6 publikacji). Moim zdaniem temat nr 2 wydaje się być szczególnie interesujący, gdzie Habilitant przedstawił zmienność w rodzinie białek GW182, które są kluczowe dla regulacji genów zależnej od mikroRNA. Opisał powstawanie domen GW w białkach GW182 ewolucyjnie wczesnych zwierząt oraz mechanizmy molekularne warunkujące różnicowanie się tych białek w różnych grupach taksonomicznych zwierząt. Po zakończeniu prac związanych z adnotacją domen wiążących białka AGO, Habilitant przygotował rozdział w monografii przedstawiający opis procedur identyfikacji i analizy porównawczej tych domen w sekwencjach białkowych. Trudności w wykrywaniu genów homologicznych o wysokiej rozbieżności sekwencji skłoniły Pana doktora Zielezińskiego do opracowania programu ORCAN do identyfikacji i charakterystyki funkcjonalnej genów ortologicznych, który obecnie jest jedynym narzędziem, które automatycznie uruchamia i

integruje kilkanaście zewnętrznych programów przewidywania ortologów i adnotacji funkcjonalnej ich sekwencji białkowych. Dodatkowo synchronizuje się z aktualnym wydaniem bazy danych UniProt Reference Proteomes, które zawiera ponad 80 mln sekwencji białek pochodzących z proteomów 23 tys. organizmów. Umiejętność identyfikacji genów homologicznych pozwoliła Kandydatowi na identyfikację i adnotację genów TRG (taksonomicznie-specyficznych) występujących w obrębie gatunku bakterii z rodzaju *Bacillus*, które mają pośrednie właściwości sekwencji pomiędzy genami szeroko rozpowszechnionymi u bakterii a niefunkcjonalnymi otwartymi ramkami odczytu.

***Opinia o wykazywaniu się przez Habilitantkę istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury***

Ustawa nakłada na komisję habilitacyjną obowiązek oceny spełnienia kryterium opisanego w art. 219 ust. 1 pkt. 3 (czyli wykazywania się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej). Pomimo iż nie jest to obowiązkiem recenzenta, w ramach tej recenzji pozwolę sobie przedstawić moją opinię na ten temat. Kryterium to będzie bowiem przedmiotem oceny komisji habilitacyjnej, zatem moja ocena będzie również wyrażona w formie pisemnej. Ustawa nakłada na kandydatów do stopnia doktora habilitowanego obowiązek wykazania się mobilnością naukową oraz istotną aktywnością badawczą w tym świetle. Czy Pan dr Andrzej Zieleziński spełnia zatem powyższy wymóg?

Habilitant w przedstawionych materiałach wskazuje na odbycie miesięcznego stażu w 2023 roku w Zakładzie Krystalografii i Krystalofizyki, wydziału Chemii, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Podczas niego przeprowadził analizę informatyczną w zakresie identyfikacji i analizy porównawczej sekwencji L-asparginaz u mikroorganizmów ekstremofilnych. Rezultatem badań była identyfikacja L-asparginaz o nietypowych właściwościach dotyczących sekwencji aminokwasowej i struktury trzeciorzędowej. Pozostaje tylko ufać zapewnieniom Habilitanta, że uzyskane wyniki zostaną w niedalekiej przyszłości opublikowane. Podczas pisania recenzji sprawdziłam, że publikacja jeszcze się nie ukazała.



Kluczowe zatem staje się odpowiedzenie na pytanie, czy aktywność naukowa Habilitanta w więcej, niż jednej uczelni była istotna? Na to pytanie odpowiadam twierdząco.

Habilitant w materiałach opisuje również swoje bardzo liczne współprace naukowe, w wyniku których wydawano wiele publikacji i jest to niewątpliwie bardzo cenna aktywność ale niemniej należy wskazać, że współpraca polegająca na wykonywaniu części badań przez Habilitanta w jego miejscu pracy zaś innej części badań przez współpracowników prowadzących je w innych ośrodkach, nie spełnia kryterium ujętego w art. 219 ust. 1 pkt. 3 Ustawy. Nie jest to bowiem aktywność Habilitanta odbywana w różnych jednostkach naukowych.

### ***Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.***

Od roku 2014 Pan dr Zieleziński prowadzi zajęcia dydaktyczne dla studentów kierunków bioinformatyki UAM, Politechniki Poznańskiej oraz biotechnologii. Pełni rolę promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Pani Deepti Varshney. Od 2014 roku był promotorem 21 prac licencjackich i 5 prac magisterskich a w chwili obecnej jest opiekunem naukowym w projekcie „Perły Nauki” zatytułowanym „Rekonstrukcja oraz analiza genomów kopalnych bakteriofagów”. Od roku 2020 Habilitant jest opiekunem naukowym Sekcji Bioinformatyki Koła Naukowego Przyrodników UAM. Spełnia się w pracy z młodzieżą gdyż został uhonorowany przez studentów Nagrodą dla Najlepszych Dydaktyków UAM. Był kierownikiem dwóch projektów PRELUDIUM oraz SONATA NCN. Kandydat angażuje się w pracę Wydziału Biologii UAM będąc członkiem Rady Naukowej, Rady Programowej kierunku Bioinformatyka, zespołu opracowującego strategię rozwoju Wydziału Biologii UAM. Aktywnie uczestniczył w przygotowaniu „Nocy Biologów” czy „Fascination of Plants Day”. Był współorganizatorem oraz współprowadzącym szkolenia poświęconego analizie sekwencji biologicznych dla pracowników Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Pomimo dużego zaangażowania w pracę naukową, organizacyjną oraz zajęcia dydaktyczne Habilitant znalazł czas aby stworzyć internetową grę naukową. Za swoją działalność naukową został uhonorowany trzykrotnie Nagrodą Rektora, stypendium Ministra Edukacji i Nauki, Nagrodą Naukową Polityki czy Nagrodą Polskiego Towarzystwa Genetycznego w konkursie na najlepszą pracę oryginalną z zakresu genetyki wykonaną w kraju.



## *Wniosek końcowy*

Na podstawie wyżej przedstawionej analizy stwierdzam, że Pan dr Andrzej Zieleziński spełnia wszystkie kryteria zawarte w Ustawie, z wyraźnym zaznaczeniem, że warunek o znaczącym wkładzie przedstawionego osiągnięcia w rozwój dyscypliny, jako niezbędny do uzyskania stopnia doktora habilitowanego, został spełniony w stopniu znaczącym. W związku z tym, popieram wniosek Pana doktora Andrzeja Zielezińskiego o nadanie mu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.



*Prof. dr hab. Alicja Węgrzyn*