



UNIWERSYTET
WARSZAWSKI

CeNT CENTRUM
NOWYCH
TECHNOLOGII

5 lutego, 2026

Prof. dr hab. Joanna Trylska
e-mail: joanna@cent.uw.edu.pl
telefon (22) 55 43 600
<http://bionano.cent.uw.edu.pl>

Rada Dyscypliny Biotechnologia
Uniwersytetu Gdańskiego
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii
Uniwersytetu Gdańskiego
i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Abrahama 58, 80-307 Gdańsk

**Recenzja w postępowaniu w sprawie nadania dr. Grzegorzowi Janowi Grabe stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie biotechnologia**

Recenzję tę przygotowałam w odpowiedzi na zawiadomienie Rady Dyscypliny Biotechnologia Uniwersytetu Gdańskiego, która powołała mnie na recenzenta komisji habilitacyjnej w tym postępowaniu. Dokumentacja przedstawiona przez kandydata jest bardzo dobrze przygotowana, w związku z tym można ocenić jego dorobek i osiągnięcia habilitacyjne.

Informacje podstawowe i sylwetka habilitanta

Doktor Grzegorz Jan Grabe ukończył studia licencjackie (2007) i magisterskie (2010) na kierunku biotechnologia na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Następnie przeniósł się na Imperial College London, gdzie w 2011 roku uzyskał kolejny stopień magistra na kierunku Molekularne i Komórkowe Podstawy Infekcji. W lutym 2016 roku, doktor Grzegorz Jan Grabe uzyskał stopień doktora nauk medycznych nadany przez *Imperial College London, The Council of the Imperial College of Science, Technology and Medicine* w Wielkiej Brytanii. Promotorem w przewodzie doktorskim był prof. David Holden. Po uzyskaniu doktoratu dr Grabe odbył dwa trzyletnie staże podoktorskie: pierwszy w *Imperial College London*, a drugi w *Harvard Medical School* w USA - oba w grupie badawczej prof. Sophie Helaine. Od roku 2023 dr Grabe pracuje jako adiunkt na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, realizując jako kierownik granty Narodowego Centrum Nauki oraz EMBO Installation Grant.

Ocena osiągnięcia naukowego przedstawionego w formie cyklu publikacji

Osiągnięciem naukowym dra Grabe będącym podstawą ubiegania się przez niego o nadanie stopnia doktora habilitowanego jest cykl artykułów zatytułowany "Molekularne mechanizmy regulacji bakteryjnych systemów toksyna-antytoksyna w *Salmonella*". Osiągnięcie to dotyczy badań habilitanta nad systemami toksyna-antytoksyna (TA) u bakterii *Salmonella enterica*. Bakteryjne systemy TA to moduły genetyczne, które kodują dwa antagonistyczne komponenty: stabilną toksynę zakłócającą

kluczowe procesy komórkowe oraz labilną antytoksynę neutralizującą jej działanie. Systemy TA są wykorzystywane przez bakterie jako odpowiedź na stres. Najlepiej scharakteryzowane są systemy TA typu II, w których zarówno toksyna, jak i antytoksyna są białkami. Mechanizm neutralizacji toksyny przez antytoksynę opiera się na ich bezpośrednim oddziaływaniu, w wyniku którego antytoksyna wiąże toksynę, tworząc stabilny, nieaktywny kompleks. Habilitant zajmował się badaniem mechanizmów oddziaływania i neutralizacji toksyn w systemach TA u *Salmonella enterica*. Co ważne, niektóre systemy TA mają udział w tworzeniu komórek przetrwałych, które wykazują tolerancję na antybiotyki. Komórki bakterii przetrwałych (tzw. *persistor cells*) mogą być odpowiedzialne za nawracające infekcje. Są to komórki, które wchodzą w stan zahamowania wzrostu ("uśpienia") i wykazują tolerancję na antybiotyki podczas terapii. W związku z tym po zakończeniu terapii mogą się odrodzić i ponownie wywołać infekcję, stanowiąc prawdopodobną przyczynę nawrotów inwazyjnej salmonellozy. Zakażenia bakterią *Salmonella* leczone są cefalosporynami, jednak inwazyjne szczepy, zwłaszcza w Afryce, nabierają oporności na te antybiotyki. Celem badań przedstawionych w osiągnięciu habilitacyjnym było wyjaśnienie molekularnych mechanizmów neutralizacji toksyn i regulacji transkrypcji systemów TA acetyltransferazowych (tacAT1-3) u *Salmonella*, w kontekście zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw nawrotów infekcji.

W skład osiągnięcia wchodzi trzy oryginalne artykuły naukowe opublikowane w bardzo dobrych anglojęzycznych czasopismach naukowych - *Nature Communications* (współczynnik oddziaływania w roku publikacji IF = 14,7, 200 pkt. MNiSZW), *Nature Chemical Biology* (IF = 13, 200 pkt.) i *Nature Structural & Molecular Biology* (IF = 12,5, 200 pkt.). Prace te są pracami wieloautorскими i pochodzą z lat 2018-2024. Oceniam to osiągnięcie jako spójne tematycznie i dobrze wybrane jako osiągnięcie habilitacyjne.

Pierwsza z prac wchodzących w skład cyklu zatytułowana "*Activity of acetyltransferase toxins involved in Salmonella persistor formation during macrophage infection*", została opublikowana w roku 2018 w *Nature Communications* (Julian A. Rycroft, Bridget Gollan, Grzegorz J. Grabe, Alexander Hall, Angela M. Cheverton, Gerald Larrouy-Maumus, Stephen A. Hare & Sophie Helaine, *Nat. Commun.*, 9:1993, 2018). W tej pracy habilitant występuje na liście współautorów jako trzeci.

Autorzy zbadali kliniczne izolaty *Salmonella* ze szpitala w Malawi i wykazali wzrost frakcji komórek przetrwałych po fagocytozie przez ludzkie makrofagi. Badania dotyczyły trzech toksyn acetyltransferazowych (TacT, TacT2 i TacT3) należących do chromosomalnych systemów TA typu II.

Artykuł dotyczy mechanizmów powstawania komórek przetrwałych u *Salmonella enterica* serowarów Typhimurium i Enteritidis podczas infekcji ludzkich makrofagów. Autorzy zbadali kliniczne izolaty inwazyjne obu serowarów pobrane od pacjentów ze szpitala w Malawi i wykazali, że wszystkie badane szczepy po fagocytozie przez ludzkie makrofagi zwiększają około 1000-krotnie odsetek komórek przetrwałych. Głównym nowatorskim osiągnięciem tej pracy była identyfikacja i charakterystyka strukturalna oraz funkcjonalna trzech toksyn acetyltransferazowych — TacT, TacT2 i TacT3 — należących do chromosomalnych systemów TA typu II. Autorzy wykazali, że wszystkie trzy toksyny hamują translację poprzez acetylację aminoacylo-tRNA, co blokuje syntezę białek, prowadząc do stanu persystencji. Dr Grabe wyznaczył również strukturę krystalograficzną toksyny TacT3 z rozdzielczością 1,5 Å. Wyniki te dostarczyły nowych, molekularnych podstaw do zrozumienia mechanizmów tolerancji antybiotykowej *Salmonella* podczas infekcji wewnątrzkomórkowej i mogą

mieć znaczenie dla opracowania strategii zapobiegania nawrotom inwazyjnej salmonellozy. Ponadto habilitant zidentyfikował molekularny mechanizm neutralizacji toksyn acetyltransferazowych przez odpowiednie antytoksyny.

Dr Grabe wskazał w załączonych oświadczeniach, że w ramach badań przedstawionych w tej publikacji otrzymał konstrukty potrzebne do oczyszczania białek, oczyścił białka do doświadczeń biochemicznych i strukturalnych, wyznaczył strukturę toksyny TacT3, przeprowadził i przeanalizował eksperyment SEC-MALS dla toksyny TacT3, przygotował część rysunków i tabel, uczestniczył w projektowaniu doświadczeń oraz współtworzył manuskrypt.

Druga praca z cyklu zatytułowana "*Auxiliary interfaces support the evolution of specific toxin-antitoxin pairing*" została opublikowana w roku 2021 w *Nature Chemical Biology* (Grabe G.J., Giorgio R.T., Hall A.M.J., Morgan R.M.L., Dubois L., Sisley T.A., Rycroft J.A., Hare S.A., Helaine S., 17:1296–1304, 2021). W tej publikacji Dr Grabe występuje jako pierwszy autor.

Praca dotyczy charakterystyki specyficznych oddziaływań trzech paralogicznych systemów TA (TacAT1, TacAT2 i TacAT3) u *Salmonella enterica* serowar Typhimurium. Systemy TA typu II kodują toksyny hamujące procesy komórkowe oraz antytoksyny, które je neutralizują poprzez bezpośrednie oddziaływanie i tworzenie stabilnego kompleksu. Jeżeli w genomie obecnych jest kilka paralogicznych kopii takich systemów TA, kluczowe jest, aby każda antytoksyna neutralizowała wyłącznie odpowiadającą jej toksynę, ponieważ krzyżowe oddziaływanie mogłoby być szkodliwe dla komórki. Aby określić mechanizmy oddziaływania toksyna-antytoksyna, autorzy rozwiązali struktury krystaliczne wszystkich trzech kompleksów TacAT oraz zbadali ich mechanizmy i specyficzność oddziaływania. Głównym nowatorskim wynikiem tej pracy było odkrycie, że specyficzność oddziaływania toksyna-antytoksyna wynika z dodatkowej helisy $\alpha 4$ toksyny, która różni się długością pomiędzy trzema paralogami. Kluczowym odkryciem była identyfikacja dodatkowych powierzchni oddziaływań między toksyną a antytoksyną. Autorzy wykazali doświadczalnie, że te dodatkowe powierzchnie oddziaływania stają się niezbędne do neutralizacji toksyny, gdy główna powierzchnia oddziaływania jest niedopasowana. Ponadto wykazali, że antytoksyny wykazują elastyczność konformacyjną — region C-końcowy TacA przyjmuje różne struktury drugorzędowe w zależności od sposobu oddziaływania z toksyną, co umożliwia formowanie różnych kompleksów.

W ramach tej pracy Dr Grabe uzyskał konstrukty do ekspresji genów toksyn i antytoksyn wykorzystane do ich oczyszczania, oczyścił wszystkie białka użyte w pracy, skrytalizował oraz określił struktury krystaliczne wszystkich kompleksów toksyna-antytoksyna: TacA3ND-TacT3, TacA1ND-TacT1 oraz TacA2-TacT2, przeprowadził eksperymenty *pull-down* białek oraz SEC-MALS oraz przeprowadził analizy bioinformatyczne. Ponadto, wspólnie z kierowniczką grupy badawczej napisał artykuł, przygotował wszystkie rysunki i tabele oraz odpowiadał na uwagi recenzentów.

Trzecia praca włączona do osiągnięcia habilitacyjnego, zatytułowana *Molecular Stripping Underpins Derepression of a Toxin-Antitoxin System*, została opublikowana w roku 2024 w *Nature Structural & Molecular Biology* (Grabe G.J.*, Giorgio R., Wiczór M., Gollan B., Sargen M., Orozco M., Hare S., Helaine S.*). Dr Grabe występuje w tej publikacji jako pierwszy i korespondencyjny autor (wspólnie z kierowniczką grupy badawczej w *Harvard Medical School*, w której to grupie powstała ta praca).

Osiągnięcie to dotyczy mechanizmów regulacji transkrypcji systemu *tacAT3* u *Salmonella enterica*. Systemy TA typu II autoregulują swoją transkrypcję w sposób zależny od stosunku stężeń toksyny do antytoksyny. Molekularne podstawy tego procesu, a w szczególności mechanizm, w jaki nadmiar toksyny prowadzi do uwolnienia kompleksu represorowego z DNA, pozostawały nieznane. Głównym celem badań było więc wyjaśnienie, jak system TA *tacAT3* reguluje swoją transkrypcję. Autorzy, łącząc techniki doświadczalne, w tym krystalografię rentgenowską z technikami obliczeniowymi, zidentyfikowali kluczowe elementy białek i sekwencje DNA niezbędne do kontroli transkrypcji operonu *tacAT3* oraz odtworzyli pełny cykl represji–derepresji tego promotora.

Głównym nowatorskim osiągnięciem tej pracy było odkrycie i strukturalna charakterystyka mechanizmu molekularnego odrywania (ang. *molecular stripping*) kompleksu represorowego od DNA operatora. Autorzy wykazali, że przy niskim stosunku T:A, kompleks heksameryczny TacA3–TacT3 silnie wiąże operator, angażując zarówno duży, jak i mały rowek DNA. Przy wzroście stosunku T:A, nadmiarowa toksyna TacT3 prowadzi do powstania oktamerycznego kompleksu (4A:4T) związanego z operatorem, którego strukturę krystaliczną autorzy rozwiązali. Przejście z heksamery do oktameru wywołuje kaskadę zmian oddziaływań powierzchni białko–białko, utratę kontaktów z małym rowkiem DNA, zmianę ułożenia dimerów antytoksyny oraz zgięcie helisy DNA, co ostatecznie prowadzi do oderwania kompleksu represorowego od operatora i derepresji transkrypcji. Wyniki te stanowią pierwszy strukturalny opis stanu przejściowego represor–DNA prowadzącego do derepresji w systemach TA.

W autoreferacie habilitant wskazał, że jego rola w tej pracy obejmowała stworzenie konstruktów do ekspresji białek, oczyszczenie białek, koordynowanie współpracy z grupą badawczą w Barcelonie, przeprowadzenie testów aktywności promotorów operonu TA, krystalizację i wyznaczenie struktur, przygotowanie rysunków i tabel, napisanie artykułu wspólnie z ostatnią autorką oraz przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

Osiągnięcie habilitanta przedstawione w tym cyklu publikacji oceniam bardzo wysoko, a wkład dra Grabe był istotny i dominujący dla powstania tego osiągnięcia.

Wkład habilitanta w prace zbiorowe

Dr Grabe dokładnie określił swój udział w przygotowanie osiągnięcia habilitacyjnego, wymieniając zadania, które realizował w ramach każdej publikacji. Załączył również oświadczenia większości współautorów trzech prac, w szczególności tych, których wkład mógł być istotny z punktu widzenia dokumentacji habilitacyjnej. Nie ma na przykład oświadczenia o wkładzie od prof. Modesto Orozco z Barcelony, jednak jego ewentualny wkład w publikację dotyczył symulacji i części obliczeniowej, a nie doświadczalnej, więc brak tego oświadczenia nie wpływa na ocenę wkładu habilitanta. Habilitant załączył zatem wszystkie istotne oświadczenia niezbędne do oceny jego wkładu. Wkład habilitanta w prace wieloautorskie można wyodrębnić w sposób jednoznaczny. Oceniam, że wkład ten spełnia wszystkie wymagania stawiane indywidualnemu osiągnięciu habilitacyjnemu.

Aktywność naukowa w więcej niż jednej uczelni

Dr Grabe wykazywał aktywność naukową w wielu ośrodkach naukowo-badawczych, zarówno w Polsce, jak i za granicą. Pracę licencjacką i magisterską zrealizował na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Po uzyskaniu

licencjatu odbył również kilka staży badawczych - w Holandii i w USA. Następnie uzyskał drugi tytuł magistera i realizował projekt doktorski oraz pierwszy staż poddoktorski w *Imperial College* w Londynie. Studia magisterskie podjął dzięki stypendium *Wellcome Trust*. Drugi staż poddoktorski zrealizował w *Harvard Medical School* w USA. Praca w tych jednostkach zaowocowała bardzo dobrymi publikacjami, które stanowią podstawą przedstawionego osiągnięcia habilitacyjnego. Od roku 2023, dr Grabe pracuje w Polsce na uczelni macierzystej. Habilitant ma zatem bogate i ponadprzeciętne doświadczenie międzynarodowe.

Inne osiągnięcia naukowe po uzyskaniu stopnia doktora

Dr Grabe brał udział także w badaniach wykraczających poza tematykę przedstawioną w cyklu publikacji stanowiącym osiągnięcie habilitacyjne. Habilitant współpracował z grupą dr Anny Barnard z *Imperial College London* nad bakteryjnym systemem TA typu II (innym niż *tacAT*) i badał jego regulację przy użyciu peptydów. Współpraca ta zaowocowała dwiema publikacjami w *ACS Chemical Biology*. W ramach kolejnej współpracy z grupą badawczą w Bostonie uczestniczył w opracowaniu bakteryjnego systemu komórkowego do badania oddziaływań białko-białko wirusa SARS-CoV-2. Podejście to umożliwiło badanie oddziaływań między białkami SARS-CoV-2 w systemie prokariotycznym, bez konieczności pracy z żywym wirusem czy hodowlami komórek eukariotycznych.

Ogólna ocena dorobku habilitanta

Habilitant jest niewątpliwie ekspertem w dziedzinie biologii strukturalnej, a w szczególności krytalografii rentgenowskiej białek oraz w określaniu struktur kompleksów toksyna-antytoksyna.

Obecnie realizuje trzy granty badawcze jako kierownik - Polonez BIS, NCN OPUS oraz *EMBO Installation Grant*. Ostatni z tych grantów przeznaczony jest na utworzenie nowej grupy badawczej. Oznacza to, że prowadzone badania są aktualne, a ich jakość została doceniona przez recenzentów oceniających wnioski grantowe. Liczba kierowanych grantów jest ponadprzeciętna, jak na osobę ubiegającą się o habilitację. Habilitant kieruje już zespołem; w ramach otrzymanych grantów zatrudnia dwóch post-doców, jednego doktoranta oraz jednego asystenta. Nawiązuje również współpracę naukową z innymi grupami badawczymi, w tym grupami z Francji, z IBB PAN oraz z firmą biotechnologiczną.

Ze względu na staże poddoktorskie za granicą, habilitant nie ma typowego doświadczenia dydaktycznego w formie prowadzenia zajęć, ćwiczeń czy wykładów dla studentów. Natomiast w czasie staży poddoktorskich opiekował się dziesięcioma studentami w ramach prac magisterskich lub praktyk doktoranckich. Uczestniczył także w kilku wydarzeniach popularyzujących naukę.

W momencie przygotowania dokumentacji całkowity dorobek habilitanta obejmował 20 artykułów w czasopismach recenzowanych, indeksowanych w bazie *Journal Citation Reports* (w tym 4 opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych). W szczególności prace opublikowane po doktoracie ukazały się w bardzo dobrych czasopismach naukowych, o wysokim współczynniku oddziaływania i liczbie punktów ministerialnych 140 i 200. Prace te są bardzo dobrze cytowane - ponad 1300 cytowań według bazy Google Scholar. Jestem nieco zdziwiona, że tylko w trzech pracach dr Grabe występuje jako pierwszy autor. W żadnej nie jest ostatnim autorem, jednak prace takie zapewne się pojawią ze względu na kierowanie własną grupą badawczą i grantami.

Dr Grabe uczestniczył w 16 międzynarodowych konferencjach naukowych i na 9 z nich wygłosił prezentacje ustne. Odbył również pięć krótkoterminowych staży badawczych w różnych ośrodkach za granicą. W latach 2010-2019 był wykonawcą w trzech grantach, a od roku 2023 zapewnia własne finansowanie badań. Zrecenzował sześć manuskryptów naukowych - ta działalność mogłaby być szersza.

Spodziewałam się w autoreferacie szerszego opisu planów badawczych na kolejne lata, zwłaszcza że po habilitacji kandydat formalnie uzyskuje samodzielność naukową. Z autoreferatu wynika, że habilitant rozszerza badania toksyna-antytoksyna u *Salmonella*, natomiast nie została wyraźnie podkreślona jego niezależność naukowa wyrażająca się w podjęciu innej tematyki badawczej niż realizowana podczas staży doktorskich. Jego obecne granty wydają się być kontynuacją dotychczasowych badań.

Wniosek końcowy

Przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe dra Grabe, będące cyklem trzech publikacji, spełnia wymagania formalne i zwyczajowe stawiane kandydatom do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Wyniki badań stanowią oryginalne osiągnięcie, w którym dr Grzegorz Jan Grabe odegrał kluczową rolę oraz wniósł istotny wkład merytoryczny i praktyczny, zwłaszcza w zakresie biologii strukturalnej oraz zrozumienia mechanizmów oddziaływania toksyna-antytoksyna u *Salmonella*.

Stwierdzam, że osiągnięcia naukowe dra Grzegorza Grabe spełniają w pełni, a nawet przewyższają, wymagania stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Uważam, że dr Grzegorz Grabe spełnia warunki ustawowe wymagane do nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie biotechnologia. Przedstawiony i opisany w dokumentacji habilitacyjnej cykl publikacji jest spójny tematycznie, a osiągnięcia w nim zawarte stanowią znaczny wkład w rozwój tej dyscypliny. Stwierdzam, że osiągnięcia naukowe doktora Grzegorza Grabe spełniają wymagania określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku "Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.), a moja ocena jego osiągnięć jest wybitnie pozytywna. Ponadto, uważam, że wniosek habilitacyjny dra Grabe zasługuje na odpowiednie wyróżnienie.