

# **Identyfikacja i charakterystyka genów, których mutacje warunkują zaburzenia neurologiczne u człowieka**

**Dr n. biol. Paweł Gawliński**

Autoreferat

Warszawa 2019

**1. Imię Nazwisko:** Paweł Gawliński

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:**

2018 – 2022, w trakcie specjalizacji z laboratoryjnej genetyki medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

2013, diagnosta laboratoryjny – studia podyplomowe, Warszawski Uniwersytet Medyczny.

2007, doktor nauk biologicznych, Centrum Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Heidelbergu, Niemcy. Tytuł rozprawy doktorskiej: Molecular characterization of the *Drosophila mitotic* inhibitor Frühstart. Promotor: Prof. Dr. Jörg Großhans.

2000, magister biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku. Tytuł pracy magisterskiej: Badanie oddziaływań endonukleazy restrykcyjnej *Mme1* z DNA. Promotor: Prof. dr hab. n. med. Anna J. Podhajska.

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**

2011.04 – obecnie **Instytut Matki i Dziecka**, Zakład Genetyki Medycznej, Warszawa, adiunkt.

2007.10 – 2009.09 **Niemieckie Centrum Badań nad Rakiem (DKFZ)**, Klinika i Zakład Aplikacyjnej Immunologii (Department of Translational Immunology), Heidelberg, Niemcy, staż podoktorski.

2002.02 - 2006.10 **Uniwersytet w Heidelbergu**, Centrum Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Heidelbergu (ZMBH), Heidelberg, Niemcy, doktorant.

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.**

**A) Tytuł osiągnięcia naukowego:**

Identyfikacja i charakterystyka genów, których mutacje warunkują zaburzenia neurologiczne u człowieka.

**B) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:**

1. Wiszniewski W\*, **Gawliński P\***, Gambin T, Bekiesinska-Figatowska M, Obersztyn E, Antczak-Marach D, Akdemir ZHC, Harel T, Karaca E, Jurek M, Sobeca K, Nowakowska B, Kruk M, Terczynska I, Goszczanska-Ciuchta A, Rudzka-Dybala M, Jamroz E, Pyrkosz A, Jakubiuk-Tomaszuk A, Iwanowski P, Gieruszczak-Bialek D, Piotrowicz M, Sasiadek M, Kochanowska I, Gurda B, Steinborn B, Dawidziuk M, Castaneda J, Wlasienko P, Bezniakow N, Jhangiani SN, Hoffman-Zacharska D, Bal J, Szczepanik E, Boerwinkle E,

Gibbs RA, Lupski JR. Comprehensive genomic analysis of patients with disorders of cerebral cortical development. *Eur J Hum Genet.* 2018 Aug;26(8):1121-1131.

**IF 2017 = 3,636; pkt MNiSW=35**

\* - pierwsze autorstwo współdzielone

Mój wkład polegał na zgromadzeniu pacjentów, analizie bioinformatycznej danych z sekwencjonowania eksomowego, potwierdzeniu metodą Sangera znalezionych wariantów, współuczestnictwie w sformułowaniu koncepcji pracy, przygotowaniu rycin, podsumowaniu i interpretacji danych, opracowaniu i napisaniu wstępnej wersji manuskryptu i współudziale w zredagowaniu ostatecznej jego wersji. **Mój wkład szacuję na 60%.**

2. **Gawlinski P**, Posmyk R, Gambin T, Sielicka D, Chorazy M, Nowakowska B, Jhangiani SN, Muzny DM, Bekiesinska-Figatowska M, Bal J, Boerwinkle E, Gibbs RA, Lupski JR, Wiszniewski W. PEHO Syndrome May Represent Phenotypic Expansion at the Severe End of the Early-Onset Encephalopathies. *Pediatr Neurol.* 2016 Jul;60:83-7.

**IF 2016 = 2,018; pkt MNiSW=25**

- pierwsze autorstwo

Mój wkład polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, wykonaniu analizy wyników sekwencjonowania eksomowego i potwierdzenie znalezionych wariantów sekwencjonowaniem metodą Sangera u wszystkich pacjentów, podsumowaniu wyników analizy molekularnej badanych genów, współudziale w pisaniu i redagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 60%.**

3. **Gawliński P\*#**, Pelc M\*, Ciara E, Jhangiani S, Jurkiewicz E, Gambin T, Rózdzyńska-Świątkowska A, Dawidziuk M, Coban-Akdemir ZH, Guilbride DL, Muzny D, Lupski JR, Krajewska-Walasek M. Phenotype expansion and development in Kosaki overgrowth syndrome. *Clin Genet.* 2018 Apr;93(4):919-924.

**IF 2017 = 3,512 ; pkt MNiSW=30**

\*- pierwsze autorstwo współdzielone, #autor korespondencyjny.

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy i nadzorze nad projektem, wykonaniu analizy wyników sekwencjonowania eksomowego, wytypowanie patogenicznej zmiany w genie *PDGFRB* i potwierdzenie jej sekwencjonowaniem metodą Sangera, napisaniu wstępnej wersji i współudziale w redagowaniu wersji ostatecznej manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 60%.**

4. Oswiecimska J, Dawidziuk M, Gambin T, Ziora K, Marek M, Rzonca S, Guilbride DL, Jhangiani SN, Obuchowicz A, Sikora A, Lupski JR, Wiszniewski W, **Gawlinski P**. Berardinelli-Seip syndrome patient with novel AGPAT2 splicesite mutation and concomitant development of polyneuropathy. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2018 Dec 19. doi: 10.4274/jcrpe.0227.

**IF 2017 = 1.163 ; pkt MNiSW=20**

- ostatnie autorstwo, autor korespondencyjny

Mój wkład polegał na opracowaniu koncepcji pracy i nadzorze nad całym projektem, analizie bioinformatycznej sekwencjonowania eksomowego, wytypowaniu patogenicznej zmiany,

potwierdzeniu wyniku sekwencjonowaniem metodą Sanger, interpretacji danych, opracowaniu i napisaniu ostatecznej wersji manuskryptu. **Mój wkład szacuję na 70%.**

**Dane bibliometryczne \*prac wchodzących w skład doniesienia naukowego:**

IF = **10,329**

Punktacja MNISW = **110**

\* wg analizy bibliometrycznej sporządzonej przez Bibliotekę Naukową Instytutu Matki i Dziecka dnia 21.01.2019.

**C) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników**

W chwili obecnej szacuje się, że na około 20 tysięcy ludzkich genów prawie 80% z nich jest ekspymowana w mózgu i u około 50% z nich występuje odmienny system regulacji ekspresji niż w innych narządach i tkankach (1). Poznanie funkcji i sposobu interakcji pomiędzy białkowymi produktami ekspresji poszczególnych genów biorących udział w tworzeniu i funkcjonowaniu układu nerwowego człowieka jest kluczowe dla opisanie różnic pomiędzy stanem zdrowia a stanem choroby. Wiele genów związanych z rozwojem i funkcjonowaniem ośrodkowego układu nerwowego, w tym mózgu, jest wciąż nieznana lub poznana w nieznacznym stopniu.

Nie byłoby możliwe poznanie struktury i funkcji poszczególnych genów, gdyby nie opracowanie modelu podwójnej helisy DNA przez Jamesa Watsona i Francis Cricka (1953). Dopełnieniem tego odkrycia było poznanie mechanizmów transkrypcji i translacji informacji genetycznej a od strony metodycznej opracowanie szeregu metod izolacji i analizy DNA. Szczególne znaczenie mają w tym kontekście metody sekwencjonowania DNA. Ważną rolę odegrały metody sekwencjonowania opracowane przez dwa niezależne zespoły kierowane przez Freda Sanger (1975)(2) oraz Allana Maxama i Waltera Gilberta (1977)(3). Praktyczne zastosowanie tych metod przyczyniło się do pierwszego całkowitego zsekwencjonowanie genomu bakteriofaga phiX174 (4). Od tego czasu gwałtowny rozwój metod opartych na sekwencjonowaniu i analizie DNA stał się jednym z głównych motorów rozwoju nauk biologicznych, czego z kolei ukoronowaniem było opublikowanie pierwszej, pełnej sekwencji genomu ludzkiego (2001-2004) (5). Projekt ten kosztował 5 miliardów dolarów amerykańskich i trwał 16 lat (1990-2006).

Rozwój nowych technologii analizy DNA opartych o wysokoprzepustowe platformy sekwencjonowania eksomowego i genomowego, w przypadku sekwencjonowania ludzkiego

genomu, zredukował ten czas do kilku dni a koszty do poniżej 1 tysiąca USD co uczyniło z techniki Sekwencjonowaniu Następnej Generacji (NGS) jedno z najbardziej powszechnych i efektywnych narzędzi w badaniach zmienności genomu, funkcji nowych i już częściowo poznanych genów, jak również szeroko pojętej diagnostyki chorób genetycznie uwarunkowanych. Dzięki zastosowaniu techniki NGS udaje się odkryć funkcję około 250 nowych genów człowieka rocznie.

Głównym celem badawczym będących podstawą osiągnięcia naukowego była **identyfikacja i charakterystyka genów, których mutacje warunkują zaburzenia neurologiczne u człowieka.**

Nieprawidłowości neurorozwojowe to heterogenna grupa chorób, która występuje u 4-6% populacji, w skład której wchodzi zmiany w strukturze mózgu, choroby nerwowo-mięśniowe, niepełnosprawność intelektualna, autyzm, padaczki i inne. Choroby te mogą być wywoływane przez czynniki środowiskowe, takie jak infekcje wirusowe czy ekspozycja na działanie toksyn. Wydaje się jednak, że zmiany w genomie takie jak aberracje chromosomowe, zmiany liczby kopii genów (CNV) i mutacje w pojedynczych genach są główną przyczyną powstawania chorób neurorozwojowych w tym wad migracji neuronalnej (WMN). Wady migracji neuronalnej to oddzielna grupa chorób neurorozwojowych spowodowana nieprawidłową migracją neuronów w rozwijającym się mózgu i układzie nerwowym. Częstość występowania tych wad w populacji szacuje się na 1:1000 żywych urodzeń. U pacjentów z WMN stwierdza się charakterystyczne zmiany w budowie mózgu, takie jak gładkomózgowie, drobno i szerokokątkowość kory mózgu, podkorowe i linijne heterotopie, okołokomorowe guzki heterotopie.

W publikacji **Wiszniewski W - Gawliński P et al. Comprehensive genomic analysis of patients with disorders of cerebral cortical development. *Eur J Hum Genet.* 2018 Aug;26(8):1121-1131** podjęliśmy próbę identyfikacji genów związanych z rozwojem ośrodkowego układu nerwowego człowieka. Badania wykonano dla 54 dzieci, u których w wyniku wady migracji neuronalnej stwierdzono malformacje kory mózgowej. Badania, sekwencjonowanie eksomowe (WES), prowadzono pod kątem identyfikacji mutacji punktowych i małych delecji. Analizę zmiany liczby kopii genów (duże insercje/delecje, duplikacje)

prowadzono z wykorzystaniem hybrydyzacji DNA do mikromacierzy (aCGH). W badanej grupie zidentyfikowano 16 nowych, zarówno SNP jak i CNV, rzadkich wariantów w znanych genach potencjalnie odpowiedzialnych za obecność WMN, w tym 11 substytucji i 2 zmiany liczby kopii genów. Łącznie znaleziono 14 (tu piszę o wszystkich SNP jakie znaleźliśmy, nowych i znanych również) substytucji z których 8 miało charakter *de novo*. Połowa znalezionych substytucji według wytycznych the American College of Medical Genetics and Genomics została zakwalifikowana jako prawdopodobnie patogenna, druga połowa jako warianty o nieznanym znaczeniu. W grupie pacjentów, u których znaleziono substytucje o nieznanym znaczeniu prawie wszyscy badani (wyjątkiem jest pacjent z mutacją w genie *FLNA* odziedziczoną po chorej matce) pochodzili od zdrowych rodziców. U trzech z tych pacjentów zaobserwowano rozszerzenie fenotypu: mutacje w genie *TUBB* (gładkomózgowie), *RELN* (drobnozакrętowość) i *MEFC2* (drobnozакrętowość)(6,7). W kolejnej grupie 5 pacjentów u których zidentyfikowano zmianę liczby kopii genów zidentyfikowaliśmy pacjenta z rozlaną pachygyrią i 3,11 Mbp delecją w 15q11.1q11.2, która jest wykrywana u osób z zespołem Angelmana (MIM#105830), co interesujące, do chwili obecnej pachygyria nie była notowana u pacjentów z tym zespołem (8).

Analiza eksomowa umożliwiła również wytypowanie rzadkich i według programów predykcyjnych uszkodzających zmian w genach, które do tej pory nie były ściśle kojarzone z procesem migracji neuronalnej. Są to raportowane już wcześniej w populacji tureckiej geny *CDH4* (u jednego tureckiego pacjenta) i *ASTN1* (u tureckiego rodzeństwa), których mutacje mogą prowadzić do malformacji mózgu (9), jak również geny *CEP85L*, *MACF1*, *LINGO4*, *LAMA2* i *LAMA5*, w których takie pojedyncze zmiany zostały w naszym badaniu znalezione po raz pierwszy. Znaczenie mutacji w genie *CEP85L* jako przyczyny malformacji mózgu zostało następnie potwierdzone poprzez zidentyfikowanie większej liczby chorych z mutacjami w tym genie i wadami mózgu oraz badaniami funkcjonalnymi na modelach zwierzęcych (we współpracy z dr Christopher A. Walsh, Harvard Medical School, USA). Publikacja dokumentująca te wyniki jest przygotowywana.

W badaniach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (publikacja **Gawliński P et al. PEHO syndrome may represent phenotypic expansion at the severe end of the early-onset encephalopathies. *Pediatr Neurol.* 2016 Jul;60:83-7**) szukaliśmy wariantów genowych, które są

przyczyną występowania zespołu PEHO (ang. PEHO syndrome; progressive encephalopathy with edema, hypsarrhythmia, and optic atrophy), który jest rzadką, uwarunkowaną genetycznie postacią niemowlęcej postępującej encefalopatii, przebiegającej z hipotonią mięśniową, drgawkami z hipsarytmią, głębokim opóźnieniem umysłowym, hiperrefleksją, przejściowym lub utrzymującym się obrzękiem i atrofią nerwu wzrokowego (10-13). Pacjentów, którzy nie posiadają atrofii nerwu wzrokowego i zmian w mózgu określa się jako „podobni do PEHO” (ang. PEHO-like). W obydwu przypadkach brak jest jednoznacznych informacji dokumentujących molekularne przyczyny występowania tych zespołów. Do badania eksomowego zakwalifikowaliśmy pacjentów z klinicznie zdiagnozowanym zespołem PEHO i kolejnych z zespołem PEHO-like. Analiza WES u jednego pacjenta z zespołem PEHO ujawniła, do tej pory nie notowane, powstałe *de novo*, substytucje zarówno w genie *GNAO1* jak i *HESX1*. Jak się wydaje mutacja w genie *GNAO1* może być odpowiedzialna za atrofię mózgu, podczas gdy opisany wariant *HESX1* może odpowiadać u dziecka za atrofię nerwu wzrokowego. Opisany przypadek tzw. mieszanego fenotypu, czyli wystąpienia u pacjenta powstałych *de novo* patogennych mutacji w dwóch różnych genach, jest raczej wyjątkiem niż regułą i może wskazywać, że za wystąpienie zespołu PEHO mogą być odpowiedzialne mutacje w więcej niż jednym *loci*. Kombinacja czynników genetycznych i środowiskowych nie może być wykluczona.

U pacjenta z zespołem PEHO-like, u którego w obrazie radiologicznym głowy stwierdzono atrofię mózgu ale bez zmian w mózdzku zidentyfikowano powstałą *de novo*, nienotowaną wcześniej w bazach danych, patogenna mutację w genie *CDKL5*. Mutacje w genie *CDKL5* mogą być przyczyną wczesnej encefalopatii padaczkowej. Konkludując, przynajmniej część przypadków chorych z zespołem PEHO nie jest wywołana mutacjami w "genie PEHO" tylko ma skrajnie ciężką postać encefalopatii padaczkowej wywołaną mutacjami w znanych genach. Naszą obserwację potwierdzają kolejne doniesienia publikacyjne (14-16).

Analiza bioinformatyczna sekwencjonowania eksomowego pozostałych pacjentów z klinicznie rozpoznany zespół PEHO i PEHO-like nie ujawniła zmian genetycznych, które mogłyby potencjalnie być odpowiedzialne za ich obraz kliniczny.

W trzeciej publikacji wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, **Gawliński P et al. Phenotype expansion and development in Kosaki overgrowth syndrome. *Clin Genet.* 2018**

**Apr;93(4):919-924**, dokonaliśmy rozszerzenia fenotypu zespołu Kosaki o ponad 70%, prezentując szereg cech nie opisanych wcześniej u tych pacjentów. Zespół Kosaki po raz pierwszy został opisany w 2011 roku przez dr Kenjiro Kosaki (Uniwersytet Keio, Tokio, Japonia), który opublikował dwa przypadki niespokrewnionych ze sobą japońskich pacjentów z identyczną substytucją w genie *PDGFRB*, opisując sposób dziedziczenia tego zespołu jako autosomalny dominujący. Analiza sekwencjonowania eksomowego grupy polskich pacjentów z podejrzeniem zespołu Noonan-like, którzy nie posiadali wielu kanonicznych cech jakie występują w tym zespole, ujawniła piątego na świecie i pierwszego płci męskiej pacjenta z zespołem Kosaki z mutacją w genie *PDGFRB*. W publikacji zebraliśmy i porównaliśmy wszystkie cechy kliniczne dotychczas opublikowanych pacjentów z tym zespołem na tle naturalnej historii rozwoju choroby naszego pacjenta od urodzenia do wieku 9 lat. W niniejszej pracy porównaliśmy i opisaliśmy szczegółowo 58 cech wszystkich znanych pacjentów z zespołem Kosaki, z czego 24 cechy po raz pierwszy, ze szczególnym uwzględnieniem stopnia ich penetracji oraz wieku ich pojawienia się. Wczesne rozpoznanie kliniczne i molekularne choroby ma fundamentalne znaczenie, min. ze względu na towarzyszącą temu zespołowi ciężką postać skoliozy, której pierwsze objawy pojawiają się w wieku około 4 lat. Odpowiednio wczesna rehabilitacja może ten proces opóźnić i złagodzić.

W czwartej publikacji wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, **Oswiecimska J et al. Berardinelli-Seip syndrome patient with novel *AGPAT2* splicesite mutation and concomitant development of polyneuropathy. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2018 Dec 19. doi: 10.4274/jcrpe.0227**, po raz pierwszy opisaliśmy pacjentkę z zespołem Seipa-Berardinelliego z objawami polineuropatii, której przyczyną nie były komplikacje wynikające z cukrzycy. Zespół Seipa-Berardinelliego to bardzo rzadka choroba genetyczna dziedziczona w sposób autosomalny recesywny, która charakteryzuje się między innymi lipodystrofią, hipertrójglicerydemią i hepatomegalią, a także występowaniem cech akromegaloidalnych. Możliwe powikłania to kardiomiopatia przerostowa, stłuszczenie wątroby z dysfunkcją narządu, hipertrofia mięśni i różnorodne zaburzenia endokrynologiczne. Do tej pory zidentyfikowano cztery geny: *AGPAT2*, *BSCL2*, *CAV1* oraz *PTRF*, których mutacje prowadzą do wystąpienia zespołu Seipa-Berardinelliego. Opisany przez nas pacjent posiadał homozygotyczną, położoną w miejscu



regulatorowym eksonu 5, 52 nukleotydową, splicingową delecję w genie *AGPAT2*, odziedziczoną od spokrewnionych rodziców. Efektem mutacji było wypadnięcie eksonu 5 i wprowadzenie przedwczesnego kodonu stop. Hybrydyzacja DNA do mikromacierzy i szczegółowa analiza bioinformatyczna WES nie ujawniły innych, dodatkowych zmian genetycznych, które mogłyby być odpowiedzialne za opisana patologię (17).

\*

Obecnie kontynuuję badania z zakresu genetyki rozwoju ośrodkowego układu nerwowego człowieka jako główny wykonawca projektu naukowego pt. "Próba identyfikacji genów odpowiedzialnych za rozwój mózgu w badaniach genomowych pacjentów z małogłowie" (kierownik projektu: dr hab. Wojciech Wiszniewski, prof. IMiD) finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki. Głównym celem projektu jest identyfikacja nowych genów, w których mutacje powodują małogłowie, jak również poszukiwanie nowych mutacji w genach znanych, odpowiedzialnych za nieprawidłowy rozwój ośrodkowego układu nerwowego człowieka. Efektem końcowym projektu będzie opublikowanie otrzymanych wyników oraz obrona pracy doktorskiej mgr Mateusza Dawidziuka, którego jestem współopiekunem i promotorem pomocniczym.

## **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych**

Moja wcześniejsza aktywność naukowo-badawcza związana była z zagadnieniami z zakresu biotechnologii enzymów restrykcyjnych (praca magisterska), biochemii białek, wczesnej embriogenezy i genetyki organizmów modelowych (praca doktorska), immunologicznych patomechanizmów w chorobach nowotworowych i malarii (staż podoktorski). Większość mojej aktywności naukowej polegała na wykorzystaniu najnowocześniejszych technik biologii molekularnej w celu poznania podstawowych procesów i mechanizmów biologicznych.

Moje pierwsze badania naukowe przeprowadzone w Katedrze Biotechnologii Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego dotyczyły biofizycznej charakterystyki oddziaływań endonukleazy restrykcyjnej *MmeI* z DNA a ich efektem była praca magisterska obroniona w roku 2000. W pracy tej zmodyfikowałem proces produkcji samego enzymu z metanotroficznego szczepu

wulkanicznej bakterii *Methylophilus methylotrophus* podnosząc jego wydajność, oraz scharakteryzowałem biofizycznie sposób oddziaływania tego enzymu z DNA w obecności dwóch najważniejszych kofaktorów reakcji: S-adenozyl-L-metioniny i sinefunginy. Enzym ten do chwili obecnej jest powszechnie używany w inżynierii genetycznej do klonowania fragmentów DNA. Po obronie pracy magisterskiej rozpocząłem studia doktoranckie w Centrum Biologii Molekularnej Uniwersytetu w Heidelbergu (ZMBH) w Niemczech. W projekcie tym skupiłem się na molekularnej, biochemicznej i genetycznej charakterystyce genu *frühstart*, inhibitora cyklu komórkowego muszki owocowej *Drosophila melanogaster*. Białkowy produkt tego genu był o tyle interesujący, że w ciągu zaledwie kilku minut od pojawienia się w cytoplazmie całkowicie wyhamowywał maksymalnie rozpędzony we wczesnej embriogenezie cykl komórkowy. Moje badania zaowocowały publikacją **Gawliński P et al. The *Drosophila* mitotic inhibitor Frühstart specifically binds to the hydrophobic patch of cyclins. *EMBO Rep.* 2007 May;8(5):490-6.**, opisującą odkryty przeze mnie nowy mechanizm przy pomocy którego komórka reguluje swój cykl komórkowy. W swojej pracy pokazałem, że białko Frühstart bezpośrednio oddziałuje z hydrofobowymi kieszonkami znajdującymi się na powierzchni najważniejszych cyklin cyklu mitotycznego blokując w ten sposób pośrednio aktywność fosforylacyjną dwóch głównych kinaz cyklu, tj. CDK1 (G2/M) i CDK2 (G1/S) jednocześnie samemu będąc substratem ich fosforylacji. Dodatkowo wszystkie wyniki i publikacja z tego okresu zostały wydane w formie rozprawy doktorskiej pt "Molecular characterization of the *Drosophila* mitotic inhibitor Frühstart" a stopień doktora nauk medycznych został mi przyznany przez Rektora Uniwersytetu w Heidelbergu w roku 2007. Kolejnym etapem mojej ścieżki naukowej był dwuletni staż podoktorski (w latach 2007-2009) odbyty w Klinice i Zakładzie Aplikacyjnej Immunologii (Department of Translational Immunology) Niemieckiego Centrum Badań nad Rakiem (DKFZ) w Heidelbergu w Niemczech. Tematem mojej pracy była rola malaria-specyficznych regulatorowych komórek T w supresji cytotoksycznej odpowiedzi ochronnych limfocytów CD4+ i CD8+ i w konsekwencji rozwój immunotolerancji w malarii wywołanej przez *Plasmodium falciparum*. Temat ten był realizowany w ramach projektu „The role of malaria-specific regulatory T cells in suppression of protective CD4+ and CD8+ cytotoxic responses and development of immunotolerance in *Plasmodium falciparum* malaria”. Projekt miał na celu

reformulację założeń dotyczących szczepionki przeciwko malarii, stworzenie nowych metod immunocytoologicznych i przedstawienie malarii jako nowego modelu do badania nowotworów. Efektem dwuletniej pracy były dwie publikacje, w PLoS ONE (**Guilbride DL, Gawliński P, Guilbride PD. Why functional pre-erythrocytic and bloodstage malaria vaccines fail: a meta-analysis of fully protective immunizations and novel immunological model. *PLoS One*. 2010 May 19;5(5):e10685**) i Trends in Parasitology (**Guilbride DL, Guilbride PD, Gawliński P. Malaria's deadly secret: a skin stage. *Trends Parasitol*. 2012 Apr;28(4):142-50**), w których sugerowaliśmy, że obecnie testowane formułacje szczepionek przeciwko malarii oparte na białkach używanych przez zarodźca malarycznego do neutralizacji naszego układu odpornościowego nie tylko że są nieskuteczne, ale że w dłuższej perspektywie przyniosą odwrotny efekt od zamierzonego. Druga publikacja zajęła pierwsze miejsce w rankingu Malaria Nexus (Elsevier's Global Malaria Resource) wydawnictwa Elsevier na najpopularniejszą publikację roku 2012.

Aktualnie pracuję jako adiunkt w Zakładzie Genetyki Medycznej w Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie, gdzie zajmuję się tematyką związaną z genetycznymi aspektami chorób rzadkich, związanych z rozwojem ośrodkowego układu nerwowego człowieka. Ponadto wśród innych moich aktywności i osiągnięć naukowych spoza tematyki związanej neurogenetyką wymienić mogę prace dotyczące badania podłoża genetycznego choroby Huntingtona (**Milewski et al. Complex interplay between the length and composition of the huntingtin-derived peptides modulates the intracellular behavior of the N-terminal fragments of mutant huntingtin. *Eur J Cell Biol*. 2015 May;94(5):179-89**) oraz przewlekłego zapalenia trzustki (**Rygiel AM et al. Gene conversion between cationic trypsinogen (PRSS1) and the pseudogene trypsinogen 6 (PRSS3P2) in patients with chronic pancreatitis. *Hum Mutat*. 2015 Mar;36(3):350-6**).



Paweł Gawliński

**Literatura:**

1. Johnson MB, Kawasaki YI, Mason CE, Krsnik Z, Coppola G, Bogdanović D, Geschwind DH, Mane SM, State MW, Sestan N. Functional and evolutionary insights into human brain development through global transcriptome analysis. *Neuron*. 2009 May 28;62(4):494-509.
2. Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1975 May 25;94(3):441-8.
3. Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977 Feb;74(2):560-4.
4. Sanger F, Air GM, Barrell BG, Brown NL, Coulson AR, Fiddes CA, Hutchison CA, Slocombe PM, Smith M. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA. *Nature*. 1977 Feb 24;265(5596):687-95.
5. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):860-921.
6. Hong SE, Shugart YY, Huang DT, et al. Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human RELN mutations. *Nat Genet*. 2000;26:93–96.
7. Le Meur N, Holder-Espinasse M, Jaillard S, et al. MEF2C haploinsufficiency caused by either microdeletion of the 5q14.3 region or mutation is responsible for severe mental retardation with stereotypic movements, epilepsy and/or cerebral malformations. *J Med Genet*. 2010;47:22–29.
8. Williams CA, Beaudet AL, Clayton-Smith J, et al. Angelman syndrome 2005: updated consensus for diagnostic criteria. *Am J Med Genet A*. 2006;140:413–8.
9. Karaca E, Harel T, Pehlivan D, et al. Genes that affect brain structure and function identified by rare variant analyses of mendelian neurologic disease. *Neuron*. 2015;88:499–513.
10. Salonen R, Somer M, Haltia M, Lorentz M, Norio R. Progressive encephalopathy with edema, hypsarrhythmia, and optic atrophy (PEHO syndrome). *Clin Genet*. 1991;39:287-293.
11. Riikonen R. The PEHO syndrome. *Brain Dev*. 2001;23:765-769.

12. Somer M. Diagnostic criteria and genetics of the PEHO syndrome. *J Med Genet.* 1993;30:932-936.
13. D'Arrigo S, Grazia BM, Faravelli F, Riva D, Pantaleoni C. Progressive encephalopathy with edema, hypsarrhythmia, and optic nerve atrophy (PEHO)-like syndrome: what diagnostic characteristics are defining? *J Child Neurol.* 2005;20:454-456.
14. Zollo M, Ahmed M, Ferrucci V, Salpietro V, Asadzadeh F, Carotenuto M, Maroofian R, Al-Amri A, Singh R, Scognamiglio I, Mojarrad M, Musella L, Duilio A, Di Somma A, Karaca E, Rajab A, Al-Khayat A, Mohan Mohapatra T, Eslahi A, Ashrafzadeh F, Rawlins LE, Prasad R, Gupta R, Kumari P, Srivastava M, Cozzolino F, Kumar Rai S, Monti M, Harlalka GV, Simpson MA, Rich P, Al-Salmi F, Patton MA, Chioza BA, Efthymiou S, Granata F, Di Rosa G, Wiethoff S, Borgione E, Scuderi C, Mankad K, Hanna MG, Pucci P, Houlden H, Lupski JR, Crosby AH, Baple EL. PRUNE is crucial for normal brain development and mutated in microcephaly with neurodevelopmental impairment. *Brain.* 2017 Apr 1;140(4):940-952.
15. Danti FR, Galosi S, Romani M, Montomoli M, Carss KJ, Raymond FL, Parrini E, Bianchini C, McShane T, Dale RC, Mohammad SS, Shah U, Mahant N, Ng J, McTague A, Samanta R, Vadlamani G, Valente EM, Leuzzi V, Kurian MA, Guerrini R. GNAO1 encephalopathy: Broadening the phenotype and evaluating treatment and outcome. *Neurol Genet.* 2017 Mar 21;3(2):e143.
16. Salpietro V, Zollo M, Vandrovцова J, Ryten M, Botia JA, Ferrucci V, Manole A, Efthymiou S, Al Mutairi F, Bertini E, Tartaglia M; SYNAPS Study Group, Houlden H. The phenotypic and molecular spectrum of PEHO syndrome and PEHO-like disorders. *Brain.* 2017 Aug 1;140(8):e49.
17. Posey JE, Harel T, Liu P, Rosenfeld JA, James RA, Coban Akdemir ZH, Walkiewicz M, Bi W, Xiao R, Ding Y, Xia F, Beaudet AL, Muzny DM, Gibbs RA, Boerwinkle E, Eng CM, Sutton VR, Shaw CA, Plon SE, Yang Y, Lupski JR. Resolution of Disease Phenotypes Resulting from Multilocus Genomic Variation. *N Engl J Med.* 2017 Jan 5;376(1):21-31.