



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

WPLYNEŁO
STARSZY
22.01.2022
PROF. DR HABIL. M. SĄSIADK
mgr Monika Sikora

Katedra i Zakład Genetyki
prof. dr hab. Maria M. Sasiadek

Wrocław, 19. 01. 2022.

Ocena

osiągnięć naukowych, aktywności naukowej oraz dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i współpracy międzynarodowej pana doktora nauk medycznych Hiroaki Taniguchi w postępowaniu habilitacyjnym w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu, wykonana na podstawie decyzji Rady Naukowej Instytutu Nauk o Zdrowiu Collegium Medicum Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

Pan dr Hiroaki Taniguchi, stopień magistra uzyskał w 2002r. w Okayama University, Reproductive Endocrinology, The Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama, Japonia, a stopień doktora w 2007r. w Laval University, Molecular Biology Department, Canada Faculty of Medicine, Quebec, Kanada, na podstawie dysertacji pt. „Regulation of GATA4 transcriptional activity in the gonads”.

Kandydat przez dwa lata pracował jako wykładowca w Okayama University, kolejno jako asystent naukowy w International Medical Center w Tokio, Japonia, od 2002 do 2007 r realizował studia doktorskie w Laval University, Molecular Biology Department, Canada Faculty of Medicine, Quebec, Kanada. W Kanadzie odbył też dwa staże podoktorskie. Przez dwa lata (2010-2012) pracował jako adiunkt w Doshisha University w Kioto, następnie jako wykładowca i naukowiec wizytujący w Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisa University, Kioto. Kolejno ponownie, pracował w Tokio jako Kierownik Projektu Badawczego, od 2016 do dzisiaj w Research Center for Nano-Bioscience w Doshisha University, Kioto. Od stycznia 2017r jest Kierownikiem Zespołu Edycji Genomu i Regulacji Transkrypcji w Zakładzie Embriologii Doświadczalnej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN, początkowo jako adiunkt, a od 2020 jako profesor Instytutu.

Ocena „osiągnięcia naukowego”

Informacje ogólne:

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe zatytułowane „Wpływ zakłóceń układu ubikwityna-proteosom oraz mutacji czynników transkrypcyjnych na zaburzenia regulacji genów w wybranych narządach”

dach” stanowi cykl 5 publikacji oryginalnych, opublikowanych w latach 2009-2018. Sumaryczny IF tych prac wynosi 13.187 (510 pkt MNiSW). W trzech spośród tych publikacji Habilitant jest pierwszym, a w dwóch drugim autorem.

Współautorzy artykułów złożyli oświadczenia, w których potwierdzili dominujący i twórczy wkład dr Hiroaki Taniguchi w opracowanie koncepcji, realizację badań i przygotowanie manuskryptów.

W skład cyklu weszły następujące publikacje:

1. **Taniguchi H**, Fujimoto A, Kono H, Furuta M, Fujita M, Nakagawa H., Loss-of-function mutations in Zn-finger DNA-binding domain of HNF4A cause aberrant transcriptional regulation in liver cancer. *Oncotarget*. 2018 May 25;9(40):26144-26156. doi: 10.18632/oncotarget.25456. eCollection 2018 May 25, no IF
2. **Taniguchi H**, Okamuro S, Koji M, Waku T, Kubo K, Hatanaka A, Sun Y, Chowdhury AMMA, Fukamizu A, Kobayashi A., Possible roles of the transcription factor Nrf1 (NFE2L1) in neural homeostasis by regulating the gene expression of deubiquitinating enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Feb 26;484(1):176-183. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.038. Epub 2017 Jan 11, IF 2.599
3. Karim MR, **Taniguchi H**, Kobayashi A, Constitutive activation of Drosophila CncC transcription factor reduces lipid formation in the fat body, *Biochem Biophys Res Commun* 2015 Aug 7;463(4):693-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.05.126. Epub 2015 Jun 3, IF 2.37.
4. Tsuchiya Y, **Taniguchi H**, Ito Y, Morita T, Karim MR, Ohtake N, Fukagai K, Ito T, Okamuro S, Iemura S, Natsume T, Nishida E, Kobayashi A. The casein kinase 2-nrf1 axis controls the clearance of ubiquitinated proteins by regulating proteasome gene expression. *Mol Cell Biol*. 2013 Sep;33(17):3461-72. doi: 10.1128/MCB.01271-12. Epub 2013 Jul 1. PMID: 23816881; PMCID: PMC3753846, IF 5.0365
5. Bouchard MF, **Taniguchi H**, Viger RS. The effect of human GATA4 gene mutations on the activity of target gonadal promoters. *J Mol Endocrinol*. 2009 Feb;42(2):149-60. doi: 10.1677/JME-08-0089. Epub 2008 Nov 13. PMID: 19008335. IF 3.221.

1. Ocena merytoryczna pracy:

Założeniem pracy Habilitanta była teza, że czynniki transkrypcyjne odgrywają kluczową rolę w regulacji ekspresji genów. W celu weryfikacji tego założenia przeprowadził badania doświadczalne na modelowych organizmach: zmodyfikowanych genetycznie myszach i *Drosophila melanogaster* oraz na liniach komórkowych, z wykorzystaniem nowoczesnych technik biologii molekularnej.

W pierwszym etapie Habilitant prowadził badania mające na celu ocenę znaczenia mutacji prowadzących do utraty funkcji czynnika transkrypcyjnego *HNF* (hepatocyte nuclear factor), który łącząc się ze wybra-

nymi regionami DNA bierze udział w regulacji ekspresji różnych genów i w ten sposób odgrywa kluczową rolę w organogenezie wątroby i trzustki (jako gen supresorowy, regulujący i hamujący proliferację komórek).

Przeprowadzono sekwencjonowanie DNA wyizolowanego z komórek linii raka wątroby (HEK293 i HuH7). Zidentyfikowano 7 mutacji somatycznych, spośród których 3 były zlokalizowane w sekwencji palca cynkowego. Analiza funkcjonalna tych mutacji pozwoliła na wykazanie, że stwierdzone mutacje obniżają aktywność transkrypcyjną *HNF4*, co wynika ze zmian w wiązaniu z DNA. Zastosowana kolejno analiza RNA-Seg pozwoliła na wykazanie istotnej korelacji pomiędzy obniżeniem ekspresji *HNF4A* i ekspresji genów regulowanych przez HNF4A (*ApoB* i *HNF1A*). Na podstawie wyników omawianych badań, Autorzy postawili hipotezę, że stwierdzone warianty mają znaczenie funkcjonalne i poprzez obniżenie ekspresji *ApoB* i *HNF1A*, prowadzą do zwiększonego ryzyka rozwoju raka wątroby (Taniguchi H, Fujimoto A, Kono H, Furuta M, Fujita M, Nakagawa H., Loss-of-function mutations in Zn-finger DNA-binding domain of HNF4A cause aberrant transcriptional regulation in liver cancer. *Oncotarget*. 2018 May 25;9(40):26144-26156. doi: 10.18632/oncotarget.25456. eCollection 2018 May 25).

W kolejnym etapie dr Taniguchi i wsp. przeprowadzili badania nad znaczeniem czynnika transkrypcyjnego *Nrf1*, o udokumentowanym znaczeniu w utrzymaniu homeostazy białek (jak udowodniono we wcześniejszych badaniach innych autorów, utrata funkcji *Nrf1* w neuronalnych komórkach macierzystych/progenitorowych u myszy powoduje ciężkie zmiany neurodegeneracyjne na skutek kumulacji ubikwitynowanych białek w komórkach Purkiniego i neuronach ruchowych). Ponieważ, jednak nie zostały wyjaśnione mechanizmy molekularne opisywanych zjawisk, dr Taniguchi i wsp. przeprowadzili badania, mające na celu wyjaśnienie tych mechanizmów. Za pomocą techniki immunofluorescencyjnej, określili lokalizację komórkową poliubikwitynowanych białek. Wykazali, że gromadzą się one głównie w jądrach komórek Purkiniego pozbawionych *Nrf1*, ale też w cytoplazmie oraz jednocześnie w jądrach i cytoplazmie neuronów kory mózgu. Ponadto wykazali, za pomocą analizy mikromacierzowej, znaczne obniżenie aktywności enzymów deubikwitynujących w tkance mózdzku o obniżonej ekspresji *Nrf1*, a kolejno wykazali, że *Nrf1* aktywuje gen *Usp9x*, który również jest powiązany z ryzykiem neurodegeneracji. Wyniki badań pozwoliły Autorom na sformułowanie tezy, że neurodegeneracja obserwowana u myszy *Nrf1* NKO może być spowodowana zaburzeniami regulacji poprzez ubikwitynyzację, równowagi białek neuronalnych (Taniguchi H, Okamuro S, Koji M, Waku T, Kubo K, Hatanaka A, Sun Y, Chowdhury AMMA, Fukamizu A, Kobayashi A., Possible roles of the transcription factor Nrf1 (NFE2L1) in neural homeostasis by regulating the gene expression of deubiquitinating enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Feb 26;484(1):176-183. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.01.038. Epub 2017 Jan 11, IF 2.599).

Następny artykuł z cyklu przedstawia wyniki badań nad mechanizmem wpływu *Nrf1* i *Nrf2* na metabolizm lipidów w wątrobie. Badania zostały przeprowadzone na modelu doświadczalnym *Drosophila melanogaster*. Kluczowym genem w omawianym badaniu był gen *Drosophila Cnc*, który jest ortologiem występującej u kręgowców, rodziny czynników transkrypcyjnych *Nrf*. Jednocześnie, larwy *Drosophila melanogaster* składające się z tkanki tłuszczowej, komórek wątrobowych i hemoctytów są dogodnym modelem do ba-

dań nad metabolizmem lipidów. Badania przeprowadzono na liniach muszek *Drosophila* (w tym jednej wild-type), z wykorzystaniem ilościowej metody PCR, testu lucyferazowego i analizy mikromacierzowej. Wyniki badań pozwoliły Autorom na stwierdzenie, że domena NHB1 wykazuje konserwatywną funkcję hamującą zarówno u *Drosophila* (CncC), jak i Nrf1 i Nrf3 u kręgowców oraz że Nrf1, pod wpływem np. stresu jest uwalnianie z ER poprzez proteolizę w obszarze N-końca. W wyniku przeprowadzonych badań Autorzy postawili ogólną tezę, że *Drosophila melanogaster* jest optymalnym modelem do badań nad molekularnymi mechanizmami działania nie tylko CncC, ale też Nrf (Karim MR, **Taniguchi H**, Kobayashi A, Constitutive activation of *Drosophila* CncC transcription factor reduces lipid formation in the fat body, *Biochem Biophys Res Commun* 2015 Aug 7;463(4):693-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.05.126. Epub 2015 Jun 3, IF 2.37).

W kolejnym artykule Habilitant wraz z zespołem przeprowadzili badania nad znaczeniem *Nrf1* w regulacji ekspresji genów proteasomu, w celu wyjaśnienia mechanizmów molekularnych aktywności *Nrf1*. Badania przeprowadzono w doświadczeniu *in vitro* na liniach komórkowych HeLa, COS7 i MCF10A. Wyniki badań pozwoliły Autorom na stwierdzenie, że CK2 bierze udział w regulacji aktywności Nrf1 poprzez regulację fosforylacji, prowadząc do obniżenia aktywności Nrf1 i tą drogą reguluje ekspresję podjednostek proteasomu. Wykazali ponadto, że fosforylacja Nrf1 Ser 497 prawdopodobnie wzmacnia aktywność transkrypcyjną, nie wpływając na stabilność, lokalizację śródkomórkową i zdolności do wiązania białka MafK. Wyniki badań pozwoliły Autorom na postawienie tezy, że oś Ck2-Nrf1 może stanowić nowy cel terapeutyczny nie tylko w chorobach nowotworowych, lecz również w chorobach neurodegeneracyjnych (Tsuchiya Y, **Taniguchi H**, Ito Y, Morita T, Karim MR, Ohtake N, Fukagai K, Ito T, Okamuro S, Iemura S, Natsume T, Nishida E, Kobayashi A. The casein kinase 2-nrf1 axis controls the clearance of ubiquitinated proteins by regulating proteasome gene expression. *Mol Cell Biol*. 2013 Sep;33(17):3461-72. doi: 10.1128/MCB.01271-12. Epub 2013 Jul 1. PMID: 23816881; PMCID: PMC3753846, IF 5.0365).

Ostatni artykuł w cyklu przedstawia wyniki badań nad znaczeniem mutacji *GATA4* dla regulacji ekspresji komórkowo-specyficznych genów w tkance gonad. Podjęcie tematu Autorzy uzasadniali wynikami badań innych autorów wskazującymi na istotne znaczenie mutacji *GATA4* w patogenezie różnych schorzeń oraz faktem, że *GATA4* ulega wysokiej ekspresji w komórkach zarówno jajników, jak i jąder. Dotychczas nie zidentyfikowano mutacji *GATA4*, która prowadziła do zaburzenia rozwoju lub funkcji układu rozrodczego. Badania przeprowadzono na liniach komórkowych, a dla uzyskania 5 badanych mutacji *GATA4* zastosowano procedury mutagenyzy ukierunkowanej. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że badane mutacje mają wpływ na ekspresję niektórych genów, aktywowanych w tkance gonad, tym niemniej, żadna z badanych mutacji nie prowadzi do poważnych zaburzeń ekspresji i funkcji tych genów (Bouchard MF, Taniguchi H, Viger RS. The effect of human GATA4 gene mutations on the activity of target gonadal promoters. *J Mol Endocrinol*. 2009 Feb;42(2):149-60. doi: 10.1677/JME-08-0089. Epub 2008 Nov 13. PMID: 19008335. IF 3.221).

Dr Taniguchi podsumował habilitacyjny cykl publikacji stwierdzeniem, że badania, które prowadził pozwoliły na wykazanie, że aktywność transkrypcyjna genów jest regulowana przez różne mechanizmy, a zaburzenia tej regulacji prowadzą do zaburzenia homeostazy komórek pochodzących z różnych tkanek.

Podsumowując analizę cyklu publikacji, który jest podstawą postępowania habilitacyjnego dr H. Taniguchi, stwierdzam, że trafność i oryginalność tematyki badawczej jest wysoka, zarówno z badawczego, jak i klinicznego punktu widzenia, chociaż obecnie wyniki Jego badań mają znaczenie głównie poznawcze.

Moja wątpliwość budzi fakt włączenia do cyklu art. Nr 5. (Bouchard MF, Taniguchi H, Viger RS. The effect of human GATA4 gene mutations on the activity of target gonadal promoters. J Mol Endocrinol. 2009 Feb;42(2):149-60. doi: 10.1677/JME-08-0089. Epub 2008 Nov 13. PMID: 19008335. IF 3.221), ze względu na fakt, że tematyka tego artykułu pokrywa się w pełni z tematyką rozprawy doktorskiej pana dr Taniguchi.

W związku z tym prosiłabym o udostępnienie cyklu publikacji lub dysertacji, która stanowiła podstawę doktoratu Habilitanta, tak aby można było ocenić, czy przedstawiona w cyklu publikacja przedstawia inne wyniki, niż były podstawą przyznania panu dr Taniguchi stopnia doktora.

Wszystkie publikacje z cyklu zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym z przyznaniem współczynnikiem wpływu, a w związku z tym są bardzo starannie i rzetelnie przygotowane.

Poprawność redakcyjną tych prac oceniam jak najwyższej.

2. Ocena metodologiczna pracy:

- a. Dr Taniguchi i współautorzy ocenianych w cyklu publikacji cytowali artykuły adekwatne do problemu poruszanego w ich tekście, literatura była aktualna, a sposób wykorzystania informacji zawartych w cytowanych tekstach jest bez zarzutu.
- b. Problemy i hipotezy badawcze w każdym z artykułów cyklu są prawidłowo sformułowane, a przeprowadzone badania odpowiadają na postawione problemy.
- c. Narzędzia badawcze zostały dobrane bezbłędnie i zgodnie z aktualną wiedzą.

Uważam, że od strony metodologicznej publikacje Habilitanta są na najwyższym poziomie.

3. Ocena dorobku naukowego z wyłączeniem publikacji z cyklu habilitacyjnego:

- a. Dorobek naukowy Habilitanta z włączeniem publikacji z cyklu habilitacyjnego obejmuje 48 publikacji (w tym 8 przed uzyskaniem stopnia doktora), które ukazały się w czasopismach ze współczynnikiem wpływu (sumaryczny IF wyniósł 193.08 pkt i 2468pkt. MNIŚW),
- b. Sumaryczny IF za wszystkie prace z udziałem Habilitanta wyniósł 193.08 pkt i 2468pkt. MNIŚW prace te były cytowane 1092 razy (bez autocytowań 1055), a IH wynosi 15.

Ocena osiągnięć naukowo-badawczych:

Dorobek naukowy dr Taniguchi, poza artykułami, które weszły w skład „dzieła” stanowi 48 publikacji (w 17 jest pierwszym lub ostatnim autorem).

Jak wynika z analizy dorobku publikacyjnego Habilitanta, Jego zainteresowania naukowe koncentrowały się konsekwentnie wokół mechanizmów funkcji genów – liczne Jego badania są poświęcone identyfikacji mechanizmów regulacji transkrypcji genów –w mechanizmie zaburzeń ubikwitynacji, metylacji promotorów i niekodującego RNA. Prowadził badania doświadczalne, z wykorzystaniem różnych modeli doświadczalnych (myszy, *Drosophila melanogaster*, linie komórkowe) i nowoczesnych metod analizy molekularnej.

Wyniki badań publikował z sukcesem w czasopismach ze współczynnikiem wpływu (*vide* IF) i były licznie cytowane przez innych badaczy (IH 15).

Dr Taniguchi jest również autorem jednej monografii naukowej i rozdziałów w dwóch kolejnych monografiach.

Prowadzone przez dr Taniguchiego badania były finansowane z 17 projektów, w 10 spośród tych projektów pełnił funkcję kierownika.

Wyniki badań dr Taniguchi i współautorzy przedstawili również w 52 prezentacjach (doniesieniach ustnych i plakatowych) na zjazdach międzynarodowych oraz krajowych.

Na podstawie analizy publikacji stwierdzam, że pan dr Taniguchi umie pracować zarówno, jako samodzielny badacz, kierujący zespołem, jak i członek zespołu badaczy, pod innym kierownictwem. Świadczy to dobrze zarówno o Jego umiejętnościach dostosowania się do grupy, jak i cechach osobowości takich jak otwartość i kreatywność.

Podsumowując, stwierdzam, że publikacje w których ważnym współautorem jest dr Taniguchi są pracami oryginalnymi, nowatorskimi i stanowią istotny wkład poznawczy oraz potencjalnie kliniczny. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że Habilitant prowadził badania finansowane z licznych grantów, a w 10 grantach pełnił funkcję kierownika.

Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej:

Dr Taniguchi w latach 2012-2014 prowadził wykłady z biologii i zajęcia praktyczne z biologii molekularnej dla studentów Dosisha University w Japonii, w latach 2015-2016 wykłady dla doktorantów Dosisha University w Japonii, a po przyjeździe do Polski prowadził wykład dla studentów studiów doktoranckich oraz w letniej szkole KNOW w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN

2) Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych:

Brak

3) Kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach:

Dr Taniguchi kierował 7 projektami podczas pracy naukowej w Japonii oraz 5 krajowymi projektami badawczymi: 1 grantem KBN, jednym MNiSW oraz 1 grantem NCN (OPUS). Był również kierownikiem pakietu zadań „Functional validation of regulatory variants” w grantie UE HORIZON.

4) Otrzymane nagrody i wyróżnienia;

Brak

5) Udział w konsorcjach i sieciach badawczych

Udział w licznych projektach badawczych, realizowanych przez różne grupy badawcze (vide pkt. 3)

6) Kierowanie projektami realizowanymi we współpracy z naukowcami z innych ośrodków polskich i zagranicznych, a w przypadku badań stosowanych we współpracy z przedsiębiorcami;

Udział w licznych projektach badawczych, realizowanych przez różne grupy badawcze (vide pkt. 3)

7) Członkostwo w towarzystwach naukowych:

Do 2019 – członek Japanese Society for Regenerative Medicine oraz The Molecular Biology Society of Japan.

8) Opieka naukowa nad studentami

Brak

8) Staże w ośrodkach zagranicznych;

Laval University, Canada - szkolenie w zakresie badań genetycznych u myszy

National Institute for Basic Biology, Nagoya, Japonia – szkolenie w zakresie metody CHIP.

9) Wykonane ekspertyzy lub inne opracowania na zamówienie:

Brak

10) Udział w zespołach eksperckich i konkursowych (Nazwa zespołu, okres udziału habilitanta, cel lub tytuł działania zespołu, charakter udziału habilitanta (np. przewodniczący, sekretarz, członek, itp.)

Brak

11) Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych oraz recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych

Dr Taniguchi recenzował co najmniej 15 prac naukowych, nadesłanych do publikacji w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

12) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego:

Brak

Podsumowując ten obszar działalności pana dr Hiroaki Taniguchi stwierdzam, że dorobek dydaktyczny jest raczej skromny, ale w ocenie należy wziąć pod uwagę fakt, że Habilitant pracował nie tylko w placówkach naukowo-dydaktycznych, ale też w placówkach naukowych, w których nie miał obowiązku ani możliwości prowadzenia szerokich zajęć dydaktycznych.

Uważam, że osiągnięcia Habilitanta w obszarze dydaktyki oraz działalności organizacyjnej spełniają podstawowe wymagania kandydatom do uzyskania awansu naukowego na stopień doktora habilitowanego.

Informacja o współpracy z otoczeniem społecznym i gospodarczym:

1. Wykaz dorobku technologicznego:

Pięć artykułów, poświęconych nowej metodyce badań molekularnych.

2. Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym:

Nie dotyczy

3. Uzyskane prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty krajowe lub międzynarodowe:

Patent JP 2015-053282, nr rejestracyjny 6530206

WO/2016/039397; opublikowany.

4. Informacja o wdrożonych technologiach:

Nie dotyczy

5. Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych:

Nie dotyczy

6. Informacja o projektach artystycznych:

Nie dotyczy

Wniosek końcowy

Na podstawie oceny przesłanej mi dokumentacji szczególnego osiągnięcia naukowego (w znaczeniu artykułu 16.2 ustawy) oraz osiągnięć naukowo-badawczych, mimo nie w pełni satysfakcjonującego dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy z otoczeniem społecznym i gospodarczym, stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, stwierdzam, że całokształt dorobku naukowego upoważnia pana dr Hiroaki Taniguchi do ubiegania się o status samodzielnego pracownika naukowego.

Dlatego też wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Nauk o Zdrowiu Collegium Medicum Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, o nadanie panu dr n. medycznych Hiroaki Taniguchi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu.

