

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko: Michał Mielcarek

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2007 Doktor nauk przyrodniczych (Dr. rer. nat)

Tytuł pracy doktorskiej: *VITO proteins are essential new cofactors of the muscle regulatory network.*
(*magna cum laude*)

Institute of Biochemistry and Biotechnology, Martin Luther University Halle – Wittenberg, Niemcy
oraz Max-Planck Institute for Heart and Lung Development, Bad Nauheim, Niemcy.

Promotor: Prof. dr dr hab. Thomas Braun

2000 Studia magisterskie z Chemii (specjalność Chemia Bioorganiczna)

Tytuł pracy magisterskiej: Modyfikowane zasady kwasów nukleinowych. Kinetyna – właściwości i reakcje. (G.P.A.: 5,0/5,0)”, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu oraz Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

Promotor: Prof. dr hab. Jan Barciszewski

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

1997 – 2001 Wolontariusz; Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, Laboratorium biochemii tRNA, Poznań.

2002 – 2006 Doktorant (asystent) (etat BATII/2); Max-Planck Institute for Heart and Lung Research – Bad Nauheim, Niemcy oraz Martin Luther University Halle - Wittenberg, Faculty of Medicine, Institute of Physiological Chemistry, Halle (Saale), Niemcy.

2007 Pracownik Naukowy, Medical Research Council, Clinical Sciences Centre, Imperial College London, London, UK.

2008 – 01.2015 Pracownik Naukowy, Department of Medical and Molecular Genetics, School of Medicine, King's College London, London, UK.

02.2015 – obecnie Starszy Pracownik Naukowy, Department of Life Sciences, Imperial College
London, London, UK.

01.2017 – obecnie Adiunkt, Pracownia Epidemiologii Chorób Rzadkich i Neuroepidemiologii,
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.



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 (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.).

a) Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego.

“Terapia genowa przy użyciu palców cynkowych w patologii mięśni szkieletowych w chorobie Huntingtona”, na który składa się ciąg czterech oryginalnych prac naukowych o sumie IF = 16.835; punkty MNiSZW= 118

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy).

Publikacja nr 1

Mielcarek, M., Toczek, M., Smeets, C., Franklin, S.A., Bondulich, M.K., Jolinon, N., Muller, T., Ahmed, M., Smith, D.L., Dick, J.R.T., Piotrowska, I., Greensmith, L., Smolenski, R.T., Bates, G.P., (2015) HDAC4-myogenin axis as an important marker of HD-related skeletal muscles atrophy. *PLoS Genetics*, 11(3): e1005021; e1005021 doi: 10.1371/journal.pgen.1005021

IF: 6,661; MNiSZW: 45

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji obejmuje: opracowanie projektu badawczego oraz poszczególnych eksperymentów, wykonanie wszystkich eksperymentów z wyjątkiem profilowania metabolomicznego, analizę uzyskanych danych, opracowanie manuskryptu do druku. Mój udział w tej publikacji szacuję na 75%. Jestem autorem korespondencyjnym tej publikacji.

Publikacja nr 2

Mielcarek, M., Smolenski, R.T., Isalan, M., (2017) Transcriptional signature of an altered purine metabolism in the skeletal muscle of a Huntington's disease mouse model. *Front. Physiol.* 8:127.

IF: 3,394; MNiSZW points: 25

Mój wkład w powstanie tej publikacji obejmuje: opracowanie projektu badawczego oraz poszczególnych eksperymentów, wykonanie wszystkich eksperymentów, analizę uzyskanych danych, przygotowanie manuskryptu do druku. Mój wkład w tę publikację szacuję na 90%. Jestem autorem korespondencyjnym tego publikacji.



Publikacja nr 3

Mielcarek, M., Zielonka, D., Piotrowska, I., Gromadecka, M., Klimberg, A., Isalan, M., (2017) Altered levels of histone deacetylases in the skeletal muscle of HD mouse models. *Hygeia Public Health*, 52(4): 391-394.

IF:0; MNISZW points:8

Mój wkład w powstanie tej publikacji obejmuje: opracowanie projektu badawczego oraz poszczególnych eksperymentów, wykonanie wszystkich eksperymentów, analizę uzyskanych danych, przygotowanie manuskryptu do druku. Mój wkład w tę publikację szacuję na 80%. Jestem autorem korespondencyjnym tego artykułu.

Publikacja nr 4

Agustín-Pavón, C.*, Mielcarek, M.*, Garriga-Canut, M., Isalan, M., (2016) Deimmunization for gene therapy: host matching of synthetic zinc finger constructs enables long-term mutant Huntingtin repression in mice. *Mol. Neurodegeneration*, 11:64.

IF: 6,780; MNISZW points: 40

Mój wkład w powstanie tej publikacji obejmuje: opracowanie projektu badawczego oraz poszczególnych eksperymentów, wykonanie części eksperymentów, analizę uzyskanych danych, przygotowanie manuskryptu do druku. Mój wkład w tę publikację szacuję na 45%. Jestem równorzędnym pierwszym autorem w tej publikacji.

c) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wprowadzenie

Choroba Huntingtona, zwana również Płasawicą Huntingtona (ang. Huntington's disease - HD) jest najczęściej występującym, dziedzicznym schorzeniem wśród rzadkich chorób neurodegeneracyjnych. Jest nią dotkniętych około 700 000 osób na całym świecie i nadal pozostaje nieuleczalną chorobą prowadzącą do nieuniknionej śmierci w przeciągu około 21 lat od momentu wystąpienia pierwszych symptomów (1). Na szczególną wagę epidemiologiczną HD wskazuje fakt, iż 1 na 400 osób jest potencjalnie nią zagrożona (2). Choroba ta jest konsekwencją wydłużenia sekwencji CAG w genie huntingtyny (ang. huntingtin, HTT), co prowadzi do tworzenia toksycznego

białka w komórkach. Molekularną podstawą choroby Huntingtona są powtórzenia trójnukleotydowe CAG w pierwszym eksonie w genie kodującym huntingtynę (*HTT*). Powtórzenia CAG kodujące poliglutaminę ulegają zwielokrotnieniu w białku, stanowiąc przyczynę rozwoju choroby Huntingtona (3). Podczas gdy zdrowe osoby mają mniej niż 35 powtórzeń CAG, u pacjentów cierpiących na chorobę Huntingtona stwierdza się od 35 do 200 powtórzeń i ich ilość jest skorelowana z agresywnością choroby (4). Najlepiej poznaną cechą patologiczną choroby Huntingtona jest postępujący proces neurodegeneracyjny, który uwidocznił się szczególnie w prążkowie, zwojach podstawnych i korze mózgowej, powodując objawy neurologiczne obejmujące zaburzenia motoryczne, poznawcze i psychiatryczne (3). Prowadzi to do rozwoju objawów klinicznych, w tym zmian osobowości, zaburzeń motorycznych, otępienia i utraty masy ciała. Objawy te postępują w miarę przebiegu choroby, powodując śmierć po około 20 latach od momentu wystąpienia pierwszych objawów klinicznych tej choroby (3). Obecnie nie ma skutecznego leczenia choroby Huntingtona i dla pacjentów dostępna jest tylko opieka paliatywna. Ponieważ choroba Huntingtona jest zaburzeniem spowodowanym mutacją w pojedynczym genie, logicznym celem jej leczenia powinna być terapia genowa oparta na wyciszeniu lub zupełnym wyłączeniu tejże mutacji.

W badaniu typu „*proof-of-concept*” wygenerowano transgeniczną linię myszy, które posiadały zmutowaną wersję genu *HTT* pod kontrolą indukowalnego promotora. Zgodnie z oczekiwaniami, ekspresja zmutowanej *HTT* doprowadziła do rozwoju objawów neurologicznych typowych dla choroby Huntingtona, które jednakże ustąpiły po wyłączeniu zmutowanej formy *HTT*. Nie tylko zatrzymało to postęp choroby ale stwierdzono również, że objawy neurologiczne rozwinięte do momentu wyłączenia mutacji są odwracalne, co oszacowano na podstawie testów motorycznych i poznawczych (5). Na tej podstawie można sądzić, że skuteczna terapia powinna być nakierowana na wyciszenie mutacji w genie *HTT*, najlepiej na poziomie DNA lub mRNA, co zapobiegłoby translacji zmutowanego białka *HTT* i w konsekwencji zapobiegłoby tworzeniu cytotoksycznych produktów komórkowych.

Chociaż jak się dotychczas wydawało główne zmiany patologiczne determinujące charakterystyczny obraz kliniczny HD są zlokalizowane w mózgu i stanowią główny cel leczenia, to jednak najnowsze badania wskazują postępujące zmiany patologiczne tkanek obwodowych jako ważny czynnik przyczyniający się do postępu choroby. U ssaków białko *HTT* ulega ekspresji w wielu tkankach i narządach (6, 7). U myszy, całkowite wyłączenie ekspresji genu *Htt* prowadzi do śmierci spowodowanej wadami we wszystkich listkach zarodkowych już na wczesnym etapie rozwoju embrionalnego (8). Istnieje coraz więcej dowodów eksperymentalnych na to, iż produkt genu *Htt* ma wpływ na różnorodne struktury i funkcje komórkowe, które są niezbędne dla wszystkich typów



komórek a nie tylko dla tkanki nerwowej, na przykład na mitochondria, czy system ubikwityna-proteasom (UPS) (9-11). Uważa się, że HTT działa jako białko stanowiące rusztowanie dla tworzenia wielu różnych kompleksów białkowych w komórce, ponieważ zawiera ono wiele motywów typu HEAT (ang. Huntingtin, Elongating factor 3, PR65/A regulatory subunit of PP2A, Tor1), które mogą tworzyć struktury podobne do solenoidów i w ten sposób ułatwiają one oddziaływania z innymi białkami (12). Na tej podstawie można sądzić, iż mutacja w genie *HTT* powoduje zmiany patologiczne w różnych typach komórek w wielu tkankach (13), włączając w to serce, mięśnie szkieletowe, nerki i wątrobę (14-17) a nie tylko w tkance nerwowej. Interesującym w tym kontekście jest fakt stwierdzony na podstawie wielu badań epidemiologicznych, że choroba serca jest drugą przyczyną śmierci u pacjentów z chorobą Huntingtona (18-20). Atrofia mięśni szkieletowych jest kolejnym istotnym czynnikiem patologicznym w chorobie Huntingtona. Co ciekawe, Kosiński wraz ze współpracownikami opisali przypadek pacjenta będącego półprofesjonalnym maratończykiem, u którego miopatia została zdiagnozowana jako pierwszy objaw kliniczny choroby Huntingtona jeszcze przed wystąpieniem objawów neurologicznych. Miopatia u tego pacjenta spowodowana chorobą Huntingtona postępowała powoli i towarzyszył jej wzrost poziomu kinazy kreatynowej. Biopsja mięśnia szkieletowego ujawniła nieprawidłowości w strukturze mitochondriów, w tym ich powiększenie oraz funkcjonalne obniżenie aktywności kompleksu IV (21). Inne badanie kliniczne ujawniło, iż pacjenci z chorobą Huntingtona mieli obniżoną siłę mięśni średnio o 50% w porównaniu do ludzi zdrowych (22). W ostatnim dziesięcioleciu społeczność naukowa zaczęła uwzględniać nieprawidłowe funkcjonowanie mięśni szkieletowych jako ważny element patologii choroby Huntingtona (17). Oczywiście istnieje potrzeba przeprowadzenia większej liczby badań na zwierzętach oraz badań klinicznych, które pozwolą na pełniejsze zrozumienie mechanizmów chorobotwórczych zachodzących w mięśniach szkieletowych z mutacją huntingtyny, co potencjalnie będzie miało znaczenie w planowaniu strategii terapeutycznych u pacjentów z chorobą Huntingtona.

Cel badań naukowych

Choroba Huntingtona jest schorzeniem wielonarządowym, obejmującym również zmiany patologiczne w mięśniach szkieletowych, co jest ważną cechą tej choroby zarówno u ludzi, jak i w modelach mysich. Dlatego głównym celem mojej pracy badawczej było poznanie mechanizmu prowadzącego do zmian patologicznych w mięśniach szkieletowych w przebiegu choroby Huntingtona, a także zidentyfikowanie potencjalnego zestawu biomarkerów, na podstawie których możliwa byłaby ocena zaawansowania tej choroby. Dodatkowo, celem moich badań było opracowanie strategii terapeutycznej pozwalającej na wyciszenie zmutowanego białka HTT. Strategię tą pierwotnie testowałem w mózgu, z zamysłem zastosowania jej następnie dla mięśni



szkieletowych. Podczas gdy poprawa funkcjonowania OUN jest nadal najważniejszym celem terapeutycznym, niewykluczonym jest że w przyszłości metody leczenia zostaną przebudowane pod kątem szerszego podejścia do leczenia, z uwzględnieniem mięśni szkieletowych.

W pierwszym oryginalnym artykule (publikacja 1) opisałem cechy fizjologiczne i molekularne atrofii mięśni szkieletowych związanych z chorobą Huntingtona w dwóch powszechnie stosowanych mysich modelach tej choroby: Mielcarek, M., Toczek, M., Smeets, C., Franklin, S.A., Bondulich, M.K., Jolinon, N., Muller, T., Ahmed, M., Smith, D.L., Dick, J.R.T., Piotrowska, I., Greensmith, L., Smolenski, R.T., Bates, G.P., (2015) HDAC4-myogenin axis as an important marker of HD-related skeletal muscles atrophy. *PLoS Genetics*, 11(3): e1005021.

Aby zbadać hipotezę mówiącą, iż zmutowana forma białka HTT jest przyczyną atrofii mięśni szkieletowych, przebadalem dwa mysie modele choroby Huntingtona, a mianowicie R6/2 i *HdhQ150*. Myszy R6/2 są transgeniczną linią posiadającą zmutowany ludzki, N-końcowy fragment białka HTT kodowany przez ekson pierwszy genu *HTT* (23), podczas gdy myszy *HdhQ150* mają wydłużone powtórzenia CAG w endogennym lokus mysiego genu *Htt* (24). Nieprawidłowości mięśni szkieletowych u myszy R6/2 badano w różnych stadiach zaawansowania choroby, a mianowicie w stadium pełno-objawowym (12 tygodni) oraz w stadium końcowym (14 tygodni) przebiegu choroby. Homozygoty *HdhQ150* natomiast porównano z typem dzikim (WT) w 22 miesiącu życia, czyli w stadium końcowym choroby. Stwierdzono znaczące zmiany w obrazie elektrofizjologicznym w funkcji kurczliwej mięśni EDL (łac. *extensor digitorum longus*) i TA (łac. *Tibialis anterior*) u myszy R6/2 w wieku 12 i 14 tygodni. Czas potrzebny, by mięśnie osiągnęły maksymalną siłę skurczu (tzw czas TTP, ang. time to peak) i czas potrzebny na rozluźnienie mięśni do połowy maksymalnej siły (1/2 czasu relaksacji) u myszy R6/2 znacząco się zmienił, co wskazuje na zanik szybko kurczliwych włókien mięśniowych w mięśniach EDL i TA. Towarzyszył temu znaczący wzrost ekspresji genów kodujących białka kurczliwe typu wolnego, takie jak *Tnn1* i *Myh7* w mięśniach TA i EDL w obydwóch mysich modelach choroby Huntingtona. Ponadto, poziom transkrypcji białek kurczliwych typu szybkiego, takich jak *Tnn3* i *Myh2*, był znacznie obniżony w badanych mięśniach. Dodatkowo zaobserwowano znaczący spadek masy mięśniowej we wszystkich typach mięśni, które były badane w obu modelach choroby Huntingtona. Konsekwencją tego była obniżona siła skurczowa i tężcowa w mięśniach kończyn tylnych, które zostały poddane badaniom elektrofizjologicznym w stadium pełno-objawowym choroby, co może wskazywać na dysfunkcję neuronów motorycznych u tych myszy.

Przeprowadzono również badanie aktywności neuronów, które ujawniło, że wystąpiła progresywna utrata liczby funkcjonalnych jednostek ruchowych w mięśniu EDL myszy R6/2, na poziomie z około 25% w 12 tygodniu życia do ponad 60% utraty w 14 tygodniu życia myszy w

porównaniu z kontrolą. Zmianom tym towarzyszył wzrost ekspresji markerów odnerwienia mięśni, na przykład genów HDAC4-Dach2-myogenina, jak również znaczące pogorszenie statusu energetycznego mięśni oraz utleniania komórkowego w obydwu modelach HD.

Podsumowując, mutacja w genie *HTT* indukowała rozwój cech patologicznych prowadzących do zaburzeń funkcji skurczowej mięśni szkieletowych, co skutkowało transformacją włókien szybkich do wolnych, co zostało dodatkowo potwierdzone przez różnicę w poziomie transkrypcji genów specyficznych dla włókien poszczególnych typów. Istotnym odkryciem opisanym w powyższej publikacji jest funkcjonalne połączenie zmian genetycznych ze zmianami fizjologicznymi, które prowadzą do atrofii mięśni szkieletowych w mysich modelach choroby Huntingtona, co może mieć olbrzymi potencjał terapeutyczny.

Ze względu na zaburzoną równowagę energetyczną i zmiany w metabolizmie puryn w mięśniach szkieletowych w mysich modelach choroby Huntingtona postanowiłem zbadać przyczynę tych zmian na poziomie transkrypcji genów zaangażowanych w te procesy. Hipoteza ta była przedmiotem badań opublikowanych w drugim artykule (publikacja 2) tj. Mielcarek, M., Smolenski, R.T., Isalan, M., (2017) Transcriptional signature of an altered purine metabolism in the skeletal muscle of a Huntington's disease mouse model. *Front. Physiol.* 8:127. Celem tych badań było zidentyfikowanie specyficznego profilu transkrypcyjnego, odpowiedzialnego za zaobserwowane zmiany zaburzeń metabolizmu puryn oraz produkcji energii. Pozwoliłoby to na zidentyfikowanie potencjalnych nowych biomarkerów związanych z patologicznymi zmianami energetyki mięśni szkieletowych w przebiegu choroby Huntingtona. Ważnym elementem tego badania jest to, iż zostało ono przeprowadzone na różnych typach mięśni szkieletowych o różnej zawartości szybkich lub wolnych włókien mięśniowych, takich jak: EDL (mięsień typu szybkiego), Soleus (mięsień typu wolnego) oraz TA lub G/P (kompleks łąc. Gastrocnemius/Plantaris) (mięsień typu mieszanego). Mięśnie szkieletowe w mysim modelu wykazywały 9-krotnie podniesioną ekspresję genu *Ampd3* (deaminazy adenozyiny 3) co może odzwierciedlać odnerwiony status mięśni szkieletowych u tych myszy, spowodowany utratą jednostek ruchowych lub brakiem aktywności tych jednostek. Wykryłem również trzykrotny wzrost ekspresji genów, takich jak *Pnp* (purynowa fosforylaza nukleozydowa) i *Xdm* (dehydrogenaza ksantynowa), które są bezpośrednio związane z metabolizmem puryn. Dodatkowo, zaobserwowałem znaczny wzrost transkryptów zaangażowanych w homeostazę energetyczną, w tym *Prkaa1* (katalityczna podjednostka alfa-1 aktywowana kinazą białkową 5'-AMP) - 4-krotny wzrost i *Pdk4* (dehydrogenaza pirogronianowa, kinaza izozym 4) - 6-krotny wzrost ekspresji. Ponadto wiele transkryptów genów (związanych z syntezą puryn *de novo*), takich jak *Adsl* (liaza adenylbursztynianowa) i *Adssl1* (liaza z adenilo-bursztynianem 1), oraz *Entpd2*



(ang. *Ectonucleoside trifosforan difosfohydrolaza 2*) i *Hk2* (heksokinaza 2) miały obniżony poziom transkrypcji w mięśniach szkieletowych mysiego modelu R6/2 choroby Huntingtona. Podsumowując, powyższe badanie po raz pierwszy charakteryzuje profil transkrypcyjny, odzwierciedlający zmiany w homeostazie energii i metabolizmie puryn w mięśniach szkieletowych mysiego modelu choroby Huntingtona. Opisane zmiany mogą stanowić przydatny zestaw biomarkerów do śledzenia postępu degeneracji mięśni w chorobie Huntingtona.

W celu dalszego poznania mechanizmu leżącego u podłoża patologii mięśni szkieletowych w mysich modelach choroby Huntingtona, w kolejnym badaniu postawiłem hipotezę, iż tego typu zmianom patologicznym może towarzyszyć zmiana poziomu transkrypcji deacetylaz histonowych (publikacja 3): Mielcarek, M., Zielonka, D., Piotrowska, I., Gromadecka, M., Klimberg, A., Isalan, M., (2017) Altered levels of histone deacetylases in the skeletal muscle of HD mouse models. *Hygeia Public Health*, 52(4): 391-394.

Celem tego badania było scharakteryzowanie profilu transkrypcyjnego 11 deacetylaz histonowych w mięśniu szkieletowym TA (łac. *tibialis anterior*) w dwóch mysich modelach, R6/2 i *HdhQ150*. U organizmów eukariotycznych zmiany transkrypcji są regulowane przez grupę enzymów znanych jako deacetylazy histonowe (HDAC). U ssaków, rodzina deacetylaz histonów składa się z 18 białek, podzielonych na cztery grupy w oparciu o podobieństwa strukturalne i funkcjonalne: klasa I (HDAC: 1, 2, 3, 8), klasa IIa (HDAC: 4, 5, 7, 9), klasa IIb (HDAC: 6, 10), klasa III (sirtuiny 1-7) i klasa IV (HDAC11 jest jedynym członkiem tej klasy) (25). W przedstawionych badaniach po raz pierwszy wykazano, iż poziom transkryptów deacetylaz histonów *Hdac1*, *Hdac2*, *Hdac4*, *Hdac5*, *Hdac6*, *Hdac8* i *Hdac11* znacząco różnił się w mięśniach szkieletowych w obydwu badanych mysich modelach choroby Huntingtona. Zmiany transkrypcji deacetylaz histonów w mięśniach szkieletowych w chorobie Huntingtona mogą przyczyniać się do postępu choroby poprzez mechanizmy epigenetyczne, które są odpowiedzialne za ogólne zmiany transkrypcji wielu genów. Z drugiej strony część białek rodziny deacetylaz histonów, a w szczególności grupa IIb może działać jako tzw. represory transkrypcyjne, powodując obniżenie ekspresji lub wyłączenie specyficznych genów (25). Zaobserwowane zmiany w poziomie transkryptów dotyczyły deacetylaz histonów należących do różnych grup, co może sugerować, iż atrofia mięśni szkieletowych w mysich modelach choroby Huntingtona może obejmować różne szlaki, przez które deacetylazy histonów regulują ekspresję innych białek. W kolejnych badaniach, istotnym będzie określenie roli poszczególnych deacetylaz histonów w postępie zmian patologicznych w mięśniach szkieletowych w przebiegu choroby Huntingtona. Dzięki lepszemu poznaniu tych mechanizmów i zidentyfikowaniu, która z deacetylaz histonów pełni przewodnią rolę w rozwoju/postępie atrofii mięśni szkieletowych, możliwe będzie



zastosowanie interwencji farmakologicznej na wczesnym etapie choroby używając specyficznych inhibitorów deacetylaz histonów. Zaprezentowane wyniki sugerują, iż obniżenie aktywności HDAC1, 2, 4, 5, 6, 8 i 11 może mieć potencjalnie korzystny efekt w leczeniu atrofii mięśni w chorobie Huntingtona. Konsekwentnie, zastosowanie specyficznych inhibitorów deacetylaz histonów, które obniżają ich aktywność, może stanowić podstawy do nowej strategii terapeutycznej.

Ostatnia publikacja (publikacja 4) będąca częścią ciągu osiągnięć naukowych opisuje nową strategię terapeutyczną, która została rozwinięta w celu wyciszenia zmutowanej formy HTT w ośrodkowym układzie nerwowym. Potencjalnie będzie ona miała zastosowanie do mięśni szkieletowych (publikacja 4); Agustín-Pavón, C.*, Mielcarek, M.*, Garriga-Canut, M., Isalan, M., (2016) Deimmunization for gene therapy: host matching of synthetic zinc finger constructs enables long-term mutant Huntingtin repression in mice. *Mol. Neurodegeneration*, 11:64.

Jak wspomniano we wstępie, najbardziej skuteczna strategia terapeutyczna powinna być oparta na wyciszeniu lub usunięciu zmutowanej formy HTT w układzie nerwowym jak również w tkankach obwodowych takich jak mięśnie szkieletowe, która to mutacja powoduje chorobę Huntingtona przyczynia się do zmian patologicznych. Syntetyczne białko, które posiada motywy sekwencyjne palcy cynkowych (ang. Zinc Finger, ZF) zostało wcześniej zaprojektowane w celu represji genu *HTT* na poziomie DNA. Ekspresja takiego białka ZF zawierającego sekwencję palców cynkowych przy użyciu wektora wirusowego typu adenowirus (ang. *Adeno-Associated Virus*, AAV) w mysim modelu choroby Huntingtona powodowała znaczącą poprawę niektórych neurologicznych upośledzeń charakterystycznych dla tej choroby. Co ważne, białko ZF specyficznie wygaszało ekspresję zmutowanej formy HTT, podczas gdy ekspresja HTT bez mutacji pozostawała na niezmiennym poziomie (26). Zostało pokazane, iż białko opóźniło początek objawów choroby Huntingtona w mysim modelu R6/2 o około 2 tygodnie co stanowi około 20% dłuższą przeżywalność (26). Sztucznie zaprojektowane białka ZF mają kilka zalet w stosunku do technologii takich jak CRISPR-Cas9. Przede wszystkim, białka takie nie przecinają DNA, a zatem są mniej mutagenne, zmniejszając ryzyko aktywacji chorób nowotworowych oraz innych problemów w leczeniu ludzi (patrz "Nieoczekiwane mutacje po edycji CRISPR-Cas9 in vivo"(27). Palce cynkowe Cys2-His2 są drugą co do wielkości rodziną białek (około 600) w ludzkim genomie (28). Obejmują one wiele różnych specyficznych sekwencji białek, które posiadają zdolność wiązania DNA, jak również represji promotorów przez białka represory np. KRAB (29). W ten sposób białka palca cynkowego rozwinęły się jako naturalne narzędzia represji genów swoistych dla specyficznego *loci* u ssaków, które mogą stanowić idealne narzędzia do zastosowań takich jak terapie genowe.



W tym badaniu, nowo opracowane białko ZF połączono na zasadzie fuzji z represorem KRAB, a całe białko fuzyjne zostało zaprojektowane w ten sposób, aby jego sekwencja była dopasowana do DNA gospodarza, w tym przypadku myszy, w celu zminimalizowania odpowiedzi immunologicznej w mózgu. Ponadto, wcześniejsze eksperymenty pokazały iż zastosowany promotor pCAG (hybryda wczesnego elementu wzmacniającego typu CMV oraz promotora β -aktyny z kurczaka) tracił aktywność u myszy co doprowadziło do znaczącego zmniejszenia ekspresji białka ZF w przeciągu 6 tygodni od wstrzyknięcia do mózgu. Dlatego w prezentowanym badaniu przetestowaliśmy nowy endogeny promotor, aby sprawdzić, czy ekspresja białka ZF-KRAB z maksymalną homologią do mysiego genomu będzie ulegała dłuższej ekspresji w ośrodkowym układzie nerwowym. W tym celu użyliśmy promotora Enolazy specyficznej dla neuronów (Eno2). Zastosowane modyfikacje białka ZF-KRAB oraz wybór nowego promotora kontrolującego jego ekspresję przyczyniło się do bardzo wysokiej represji zmutowanego białka HTT o 77% w całym mózgu, 3 tygodnie po obustronnym dokomorowym wstrzyknięciu 10^{10} wirionów. Co istotne, 23% represji zmutowanego białka HTT było nadal wykrywalne po 24 tygodniach od wstrzyknięcia. Podsumowując, należy stwierdzić iż zastosowane modyfikacje białka ZF przyniosły wydłużenie efektu wyciszenia mutacji w białku HTT oraz wykazywały zmniejszoną toksyczność, co będzie miało bezpośrednie przełożenie na terapię genową opartą na wykorzystaniu białka typu palca cynkowego.

Podsumowanie

Moje długoterminowe badania zaowocowały wieloma ważnymi odkryciami, które przyczyniły się do lepszego zrozumienia patologicznych cech choroby Huntingtona. Przy użyciu mysich modeli tej choroby, zainicjowałem nowy kierunek badawczy, który pozwolił na scharakteryzowanie atrofii mięśni szkieletowych na poziomie fizjologicznym i molekularnym jako ważnego czynnika wpływającego na ogólny postęp choroby Huntingtona. Badania te nie tylko pozwoliły na przedstawienie nowego mechanizmu, który powoduje zanik mięśni szkieletowych w przebiegu choroby Huntingtona, ale pozwoliły także na zidentyfikowanie wielu potencjalnych biomarkerów, które mogą być wykorzystane w nadchodzących badaniach na mysich modelach tej choroby, jak również w badaniach klinicznych. Identyfikacja nowych szlaków, takich jak deregulacja ekspresji określonych deacetylaz histonów na poziomie transkrypcji, może otworzyć nowe możliwości interwencji farmakologicznych z ich specyficznymi inhibitorami. Wreszcie, opracowanie dalszych protokołów opartych na zastosowaniu syntetycznych białek typu ZF do leczenia choroby Huntingtona, w tym mięśni szkieletowych, może mieć rzeczywisty wpływ na kształt przyszłych badań klinicznych związanych z tą chorobą. Ten kierunek moich badań może być dalej rozwijany i pozwolić



w przyszłości na podejmowanie prób klinicznych oraz leczenie wielu chorób typu poliQ (ang. polyglutamine).

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Jestem absolwentem Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Studia magisterskie ukończyłem w 2000 roku. Podczas studiów odbyłem indywidualny program nauczania, który pozwolił mi ukończyć szereg kursów z zakresu biologii molekularnej i biotechnologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Karierę naukową rozpocząłem jako magistrant w Laboratorium biochemii tRNA w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu pod kierunkiem Prof. Jana Barciszewskiego, gdzie zdobyłem doświadczenie z zakresu biochemii i biologii molekularnej. Moja praca obejmowała identyfikację kinetyny (homologu adeniny i znanego regulatora wzrostu roślin) jako markera uszkodzenia DNA u ludzi, który został zidentyfikowany w próbkach moczu, krwi. W kolejnym badaniu *in vitro* odkryłem, iż cząsteczki tRNA oraz 5S rRNA są potencjalnymi katalizatorami w reakcji Dielsa-Aldera. Kolejnym interesującym aspektem mojej pracy, było opracowanie odpowiednich metod produkcji szczepionek opartych o zastosowanie technologii wysokich ciśnień. Projekt ten został zrealizowany we współpracy z Centralnym Laboratorium Szczepionek w Warszawie oraz z Instytutem Chemii Organicznej PAN w Warszawie. Moja praca w Instytucie Chemii Bioorganicznej zaowocowała dwoma oryginalnymi artykułami naukowymi oraz dwoma rozdziałami w książkach: Mielcarek, M., Barciszewska, M.Z., Salanski, P., Stobiecki, M., Jurczak, J., Barciszewski, J., (2002) Native transfer RNA catalyzes Diels-Alder reaction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 294, 145-148; Barciszewski, J., Mielcarek, M., Stobiecki, M., Siboska, G., Clark, B.F.C., (2000) Identification of 6-furfuryladenine (kinetin) in human urine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279, 69-73; Barciszewski, J., Mielcarek, M., Barciszewska, M.Z., (1999) Modified nucleosides of nucleic acids. Occurrence and properties of kinetin (in Polish), book chapter, in: On the frontier of Chemistry and Biology, Koroniak, H., Barciszewski, J., Eds., A. Mickiewicz University Press, Poznan, Poland, pp 77-111; Mielcarek, M., Barciszewski, J., (1998) Chemical modification of DNA (in Polish), book chapter, in: On the frontier of Chemistry and Biology, Koroniak, H., Barciszewski, J., Markiewicz, W.T., Ziemnicki, K., Eds., A. Mickiewicz University Press, Poznan, Poland, pp 217-242.

W 2007 roku uzyskałem stopień doktora nauk przyrodniczych, pracując nad projektem "*VITO proteins are essential new cofactors of the muscle regulatory network*" na Martin-Luther University Halle-Wittenburg w Niemczech oraz w Max-Planck Institute for Heart and Lung Development, Bad Nauheim w Niemczech. Praca doktorska została wykonana pod kierunkiem Prof. Thomasa Brauna, który jest światowym pionierem w tematyce regulacji transkrypcyjnej w mięśniach szkieletowych



oraz sercu. Moja praca doktorska zaowocowała zidentyfikowaniem dwóch nowych genów, *Vito1* i *Vito2* oraz opisaniem ich podstawowych funkcji biologicznych. Wykorzystując technologie RNAi, pokazałem, że białko VITO-1 jest kluczowym czynnikiem różnicowania mioblastów. Na podstawie mojej pracy doktorskiej, opublikowałem trzy oryginalne publikacje w wysoko punktowanych czasopismach: Mielcarek, M., Piotrowska, I., Schneider, A., Gunther, S., Braun, T., (2009) VITO-2, a new SID domain protein, is expressed in the myogenic lineage during early mouse embryonic development. *Gene Expr. Patterns*, 9(3), 129-137; Gunther S.*, Mielcarek, M*, Kruger, M., Braun, T., (2004) VITO-1 is an essential cofactor of TEF-1 dependent muscle specific gene regulation. *Nucl. Acid Res.*, 32, 791-802; Mielcarek, M., Gunther, S., Kruger, M., Braun, T., (2002) VITO-1, a novel vestigial related protein is predominantly expressed in the skeletal muscle lineage. *Mech. Dev.* 119S, S269-S274.

Podczas stażu podoktorskiego (2008-2015) pod kierunkiem Prof. Gillian Bates, światowej klasy ekspertki badającej chorobę Huntingтона (HD), skupiłem się na opracowaniu nowych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na zastosowanie inhibitorów deacetylaz histonów w chorobie Huntingтона. Program badawczy, który prowadziłem, doprowadził do identyfikacji HDAC4 jako nowego celu terapeutycznego w chorobie Huntingтона. Moim głównym osiągnięciem badawczym była identyfikacja HDAC4 jako nowego celu terapeutycznego w chorobie Huntingтона (PLoS Biology 11 (11): e1001717, 2013; PLoS ONE, 6 (11), e27746, 2011). Jest to pierwszy nowy molekularny cel terapeutyczny zidentyfikowany dla choroby Huntingтона w ciągu ostatnich 25 lat, a moje badanie zostało wyróżnione przez redakcję czasopism takich jak PLoS Biology (11 (11): e1001718. Doi: 10.1371 / journal.pbio.1001718) oraz Nature Reviews Neurology (10, (2014) doi: 10.1038 / nrneurol.2013.264). To odkrycie doprowadziło ostatecznie do opracowania nowych selektywnych inhibitorów dla grupy IIa deacetylaz histonów, które są obecnie testowane w mysich modelach chorób neurodegeneracyjnych. Projekt ten prowadziłem w ścisłej współpracy z wiodącymi firmami farmaceutycznymi, takimi jak Novartis Pharma, IONIS Pharmaceuticals i Pfizer oraz we współpracy firmami biotechnologicznymi, takimi jak Cell Signaling, Biofocus (Charles River) oraz ośrodkami akademickimi w Szwajcarii i USA. Drugim przewodnim tematem moich badań był wpływ mutacji w białku HTT na zmiany patologiczne w kardiomyocytach mysich modelach choroby Huntingтона. Badanie te zaowocowało opublikowaniem wyników moich badań w wysoko punktowanym czasopiśmie PLoS Genetics, w której opisałem mechanizm prowadzący do kardiomiopatii wywołanej chorobą Huntingтона. (Mielcarek, M., i wsp. PLoS Genetics, 10 (8): e1004550, 2014). Ponadto, moje kolejne badania zidentyfikowały biomarkery we krwi pacjentów z chorobą Huntingтона związane z patologią mięśni szkieletowych i serca (opublikowane w BBA Molecular Basis of Disease, 1862; 2016). Ponadto zaprojektowałem i wykonałem nową strategię terapeutyczną dla mięśni



szkieletowych w chorobie Huntingtona opartą na zastosowaniu rozpuszczalnej formy aktywny-receptora typu IIb w mysim modelu tej choroby (Mielcarek, M., i wsp. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014; 85: A97).

Od 2015 roku do chwili obecnej pracuję jako starszy pracownik naukowy w grupie Prof. Marka Isalana, gdzie wspólnie opracowujemy terapię genową opartą na palcach cynkowych w chorobie Huntingtona. Nasze niedawno opublikowane wyniki wykazały długoterminowy efekt białka ZF na wyciszenie mutacji w białku HTT (*Mol. Neurodegeneration*, 11:64 2016) co zostało zauważone przez 17 agencji prasowych na całym świecie (np. *New Scientist*, *Huffington Post*, *La Vanguardia*). Tę strategię terapeutyczną będę ostatecznie rozwijał w kierunku innych chorób genetycznych spowodowanych wydłużeniem troj nukleotydu CAG w innych genach, które uznaje się za przyczynę chorób typu poliQ.

W ciągu ostatnich 5 lat nawiązałem współpracę z wieloma badaczami: Prof. Ryszard Smoleński (Gdański Uniwersytet Medyczny), który jest światowym liderem w dziedzinie metabolizmu nukleotydów; Prof. Peter Heutink (DZNE, Tubingen, Niemcy) technologia iPSCs, Dr. Vincenzo De Paola (ICL, MRC), światowy ekspert w dziedzinie przebudowy synaptycznej oraz Dr Fabien Guidez z laboratorium prof. Christine Chomienne (pionierem badań translacyjnych w nowotworach szpikowych z *Institute Universitaire d'Hématologie, Université Paris Diderot, Francja*). Od 2014 roku współpracuję z dr. Danielem Zielonką z Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, w związku z czym w 2016 roku zostałem zatrudniony jako adiunkt w Laboratorium Epidemiologii i Neuroepidemiologii Katedry Medycyny Społecznej, Pierwszego Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Miałem okazję zostać opiekunem naukowym dla wielu studentów studiów licencjackich / magisterskich z różnych krajów, w tym z Niemiec i Holandii, a obecnie jestem promotorem pomocniczym jednego doktoratu na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Opublikowałem ponad 30 publikacji z łączną ilością ponad 750 cytowań (Google Scholar). Jestem recenzentem w wielu czasopismach, w tym: *PLoS One*, *Nature Scientific Reports*, *Frontiers Molecular Biosciences*, *Frontiers Cellular Neuroscience*, *Experimental Gerontology*, *Frontiers Aging Neuroscience*, *Metabolites*, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, *Frontiers in Chemistry*, *Brain Sciences*, *Frontiers in Pharmacology*, *Metabolites*, *Biochemie*, *Molecular Neurodegeneration*, *International Journal of Neuroscience*. Zostałem również recenzentem grantów dla Fundacji Neurologicznej w Nowej Zelandii i DFG (Niemcy).

Jestem aktywnie zaangażowany w publiczne propagowanie nauki. Regularnie gościłem studentów na poziomie liceum w celu odbycia praktyk w ramach programu „Nuffield Summer Placement Scheme” na Imperial College London. Ponadto, jestem zaangażowany w program dla



studentów studiów licencjackich „University Research Opportunities Program”, a jeden z moich studentów uczestniczących w tym programie opublikował artykuł przeglądowy w *Frontiers in Physiology* (Critchley, BJ., I wsp. (2018) *Front, Physiol.*, 9: 559). Ponadto byłem współorganizatorem wydarzenia pt „Choroby infekcyjne i innowacyjność w malarii”, które odbyło się w Londyńskim Muzeum Nauki. To wydarzenie było częścią popularyzacji nauki pt „Science Lates”, które było sponsorowane przez fundację Billa i Melindy Gates (2016); Londyn, Wielka Brytania.

http://www3.imperial.ac.uk/newsandeventspggrp/imperialcollege/lifesciences/newssummary/news_8-11-2016-17-1-8

Opierając się na moim wyjątkowym multidyscyplinarnym stażu badawczym (połączenie chemii, biologii rozwojowej, patologii mięśni poprzecznie prążkowanych i nauk neurologicznych), który uzyskałem w ciągu ostatnich 15 lat, mój długoterminowy cel badań skupi się na powiązaniach między ośrodkowym układem nerwowym a tkankami obwodowymi, takimi jak mięśnie szkieletowe i serce, w zdrowym organizmie oraz w stanach chorobowych i starzeniu. Skoncentruję się w szczególności na chorobach neurodegeneracyjnych.

5f) Całkowity Impact Factor: 99,584; MNiSZW: 702

5g) Całkowita ilość cytowań:

Web of Science: 575

Google Scholar: 767

5h) Indeks Hirsha:

Web of Science: 15

Google Scholar: 15

5i) Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach:

Imperial/ICR/NIHR BRC/NHS; Validation of humanised hZFP lead construct for a first-in-human AAV-based gene therapy for Huntington's disease; 08/18-07/19; wykonawca.

Imperial/ICR/NIHR BRC/NHS; Gene therapy for Huntington's disease using synthetic zinc finger transcription repressors; 08/2016-12/2017, wykonawca.

ERC Proof of Concept; 2015-2016; wykonawca.



CHDI foundation; Validation of therapeutic targets for Huntington's disease using mouse models;
1/2008- 01/2015; wykonawca.

5K) Wygłoszenie referatów na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych:

MDS-ES Chorea and Related Disorders Course (Poznan, Poland, 2018) organised by The International Parkinson and Movement Disorder Society

Neurophysiology of Chorea

XIX Annual Meeting of Experimental Cardiology Section of the Polish Cardiology Society and Polish Physiology and Pharmacology Society of Polish Academy of Sciences, 2014, Gdansk, Poland.

Cardiac dysfunction in Huntington's disease.

EHDN Polish Investigators Meeting, 2013, Krakow, Poland.

Heart dysfunction in HD mouse models.

CHDI Foundation Workshop 2010: HDAC4 and Huntington's disease, 2010, Los Angeles, USA

HDAC4 as therapeutic target in HD.

5th Annual Plenary Meeting of European Huntington Disease Network, 2008, Lisbon, Portugal.

HDAC4 Knock-down Improves HD Related Phenotypes in R6/2 Mice.

Biennial meeting on Huntington's disease HD2008: The Milton Wexler Celebration of Life organized by the Hereditary Disease Foundation, 2008, Boston, USA.

HDAC4 Knock-down Improves HD Related Phenotypes in R6/2 Mice.

Aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych (postery).

EHDN Plenary Meeting, 2018, Vienna, Austria.

Toczek, M., Zielonka, D., Marcinkowski, J.T., Isalan, M., Smolenski, R.T., Mielcarek, M., An altered metabolism of nucleotides leads to Huntington's disease related cardiomyopathy.

Puch, A., Witkowski, G., Isalan, M., Mielcarek, M., Zielonka, D., A frequency of concomitant disorders in presymptomatic Huntington's disease patients.



Imperial Confidence in Concept Scheme, Imperial NIHR BRC/Imperial Innovations Funds, and NIHR BRC at The Royal Marsden and The Institute of Cancer Research Funds Researchfish Update Meeting, 2017, London, UK

Agustín-Pavón, C., Mielcarek, M., Garriga-Canut, M., Isalan, M., A zinc finger based gene therapy for Huntington's disease – on the road to the clinic.

ERC Anniversary Event Research Showcase at ICL, 2017, London, UK

Agustín-Pavón, C., Mielcarek, M., Garriga-Canut, M., Isalan, M., A zinc finger based gene therapy for Huntington's disease – on the road to the clinic.

8th EHDN Plenary Meeting, 2014, Barcelona, Spain.

Mielcarek, M., Rattray, I., Osborne, G.F., Jolinon, N., Dick, J.R.T., Bondulich, M.K., Franklin, S.A., Benjamin, A.C., Goodwin, D., Lazell, H., Wood, T., Munoz-Sanjuan, I., Howland, D., Smith, D.L., Lee, S.H., Greensmith, L., Bates, G.P., Myostatin inhibition as a novel approach to targeting muscle pathology in HD.

Mielcarek, M., Inuabasi, L., Bondulich, M.K., Muller, T., Osborne, G.F., Franklin, S.A., Smith, D.L., Neuder, A., Rosinski, J., Rattray, I., Protti, A., Bates, G.P., The CNS-heart axis is a source of cardiac dysfunction in mouse models of Huntington's Disease.

43rd European Muscle Congress, 2014, Salzburg, Austria.

Mielcarek, M., Inuabasi, L., Bondulich, M.K., Muller, T., Osborne, G.F., Franklin, S.A., Smith, D.L., Neuder, A., Rosinski, J., Rattray, I., Protti, A., Bates, G.P., The CNS-heart axis is a source of cardiac dysfunction in mouse models of Huntington's Disease.

Mielcarek, M., Jolinon, N., Ahmed, M., Smith, D.L., Dick, J.R.T., Greensmith, L., Bates, G.P., The R6/2 mouse model of Huntington's disease displays a denervation-like phenotype.

9th Annual Huntington's Disease Therapeutics Conference, 2014, Palm Springs, USA.

Gelman, G., Kwan, M., Beaumont, V., Ghavami, A., Bates, G.P., Mielcarek, M., Smith, D.L., Tombaugh, G., Enhanced striato-pallidal GABAergic neurotransmission in HD models: Reversal by genetic knockdown of HDAC4 in zQ175 mice.

World Congress on Huntington's Disease, 2013, Rio de Janeiro, Brasil.



Mielcarek, M., Landles, C., Weiss, A., Bradaia, A., Seredenina, T., Inuabasi, I., Wadel, K., Touller, C., Butler, R., Robertson, J., Franklin, S.A., Smith, D.L., Park, L., Marks, P.A., Wanker, E.E., Olson, E.N., Luthi-Carter, R., Van der Putten, H., Beaumont, V., Bates, G.P., HDAC4 Reduction: a Novel Therapeutic Strategy to Target Cytoplasmic Huntingtin and Ameliorate Neurodegeneration.

43rd Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2013, San Diego, USA.

G. Tombaugh, S. Gelman, A. Bradaia, K. Wadel, V. Gardes, C. Touller, A. Sers, A. Ghavami, B. Buisson, G. Bates. **M. Mielcarek, C. Dominguez, M. Maillard, V. Beaumont.** Genetic knockdown of HDAC4, or sub-chronic treatment with a novel selective Class IIa HDAC inhibitor, reverses elevated membrane excitability in striatal medium spiny neurons from R6/2 and zQ175 Huntington's disease model mice.

Annual Plenary Meeting of European Huntington Disease Network, 2012, Stockholm, Sweden.

Mielcarek, M., Landles, C., Weiss, A., Bradaia, A., Seredenina, T., Inuabasi, I., Wadel, K., Touller, C., Butler, R., Robertson, J., Franklin, S.A., Smith, D.L., Park, L., Marks, P.A., Wanker, E.E., Olson, E.N., Luthi-Carter, R., Van der Putten, H., Beaumont, V., Bates, G.P.,

HDAC4 interacts with Huntingtin and HDAC4 reduction decreases cytoplasmic aggregation and rescues synaptic dysfunction in HD mouse models.

5th Annual HD Therapeutic Conference: A Forum for Drug Discovery & Development, 2010, Palm Spring, USA.

Mielcarek, M., Seredenina, T., Benn, C.L., Labbadia, J., Sathasivam, K., Robertson, J., Weiss, A., Woodman, B., Smith, D.L., Olson, E.N., Osmand, A., Paganetti, P., Luthi-Carter, R., Bates, G.P., HDAC4 as a therapeutic target for Huntington's disease.

4th Annual HD Therapeutic Conference: A Forum for Drug Discovery & Development, 2009, Cannes, France.

Benn, C.L., Butler, R., Mariner, L., Nixon, J., Moffitt, H., **Mielcarek, M.**, Olson, E.N., Woodman, B., Bates, G.P., Genetic knock-down of HDAC7 does not ameliorate disease pathogenesis in the R6/2 mouse model of Huntington's disease.

Benn, C.L., Butler, R., Nixon, J., Moffitt, H., **Mielcarek, M.**, Olson, E.N., Woodman, B., Bates, G.P., Genetic knock-down of HDAC5 does not ameliorate disease pathogenesis in the R6/2 mouse model of Huntington's disease.



Moumne, L., Mielcarek, M., Pressey, O., Woodman, B., Campbell, K., Ouyang, Y., Howland, D., Bates, G.P., Phenotypic and molecular characterization of Histone deacetylase 3 knock down in mouse.

Mielcarek, M., Benn, C.L., Butler, R., Labbadia, J., Sathasivam, K., Robertson, J., Moffitt, H., Paganetti, P., Olson, E.N., Woodman, B., Bates, G.P., Molecular characterization of the *Hdac4Het* - R6/2 genetic cross.

Biennial meeting on Huntington's disease HD2010: The Milton Wexler Celebration of Life organized by the Hereditary Disease Foundation, 2010, Boston, USA.

Mielcarek, M., Seredenina, T., Benn, C.L., Landles, C., Sathasivam, K., Robertson, J., Weiss, A., Woodman, B., Smith, D.L., Olson, E.N., Paganetti, P., Luthi-Carter, R., Bates, G.P., HDAC4 modulates aggregates load and improves phenotype of the R6/2 HD mouse model.

Biennial meeting on Huntington's disease HD2008: The Milton Wexler Celebration of Life organized by the Hereditary Disease Foundation, 2008, Boston, USA.

Mielcarek, M., Benn, C.L., Butler, R., Robertson, J., Moffitt, H., Olson, E.N., Woodman, B., Bates, G., HDAC4 Knock-down Improves HD Related Phenotypes in R6/2 Mice.

5th Annual Plenary Meeting of European Huntington Disease Network, 2008, Lisbon, Portugal.

Mielcarek, M., Benn, C.L., Butler, R., Robertson, J., Moffitt, H., Olson, E.N., Woodman, B., Bates, G., HDAC4 Knock-down Improves HD Related Phenotypes in R6/2 Mice.

II Myores Congress, 2006, Prague, Czech Republic.

Mielcarek, M., Braun, T., VITO-2 as a new member of vestigial and TONDU related gene family.

I Myores Congress, 2005, Rome, Italy.

Mielcarek, M., Braun, T., VITO proteins are essential new cofactors of the muscle regulatory program.

18th tRNA Workshop "tRNA 2000", 2000, Cambridge, UK.

Mielcarek, M., Clark, B.F.C., Barciszewski, J., Kinetin inhibits tRNA degradation with hydroxyl radicals.

Recenzowanie publikacji w czasopismach miedzynarodowych i krajowych: ponad 30 manuskryptow



PLoS One, Nature Scientific Reports, Frontiers Molecular Biosciences, Frontiers Cellular Neuroscience, Experimental Gerontology, Frontiers Aging Neuroscience, Metabolites, ACS Medicinal Chemistry Letters, Frontiers in Chemistry, Brain Sciences, Frontiers in Pharmacology, Metabolites, Biochemie, Molecular Neurodegeneration, Cells, Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids, PeerJ, Open Life Sciences International Journal of Neuroscience.

Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych:

Neurological Foundation of New Zealand;

DFG (German Research Foundation)

Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych

(1999) Member of Federation of Polish Biochemical Society (FEBS Constituent Society).

(2010) Member of the European Huntington Disease Network (EHDN).

(2017) Elected Member of the Animal Welfare and Ethical Review Body (AWERB) for South Kensington and St. Mary's campuses at Imperial College London, UK.

Dydaktyka :

Wykładowca: MSc in Genes Drugs and Stem Cells: Gene Therapy Advanced module, Department of Medicine, National Heart and Lung Institute, Imperial College London.

Wykładowca: MSc, PG Dip, PG Cert Genomic Medicine: Genome-Based Therapeutics module, Department of Medicine, National Heart and Lung Institute, Imperial College London.

Seminaria: Genes and Genomics moduł, Biochemistry, Department of Life Sciences, Imperial College London.

Promotor lub promotor pomocniczy prac magisterskich, lekcji i prac doktorskich:

Ponad 10 prac licencjackich: King's College oraz Imperial College London.

Trzy prace magisterskie: King's College oraz Imperial College London.

Jedna praca doktorska – w trakcie na Gdanskim Uniwersytecie Medycznym

Staże w zagranicznych i krajowych ośrodkach naukowych lub akademickich

Imperial College London, London, UK (2015-obecnie)



Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (2017-obecnie)

King's College London, London, UK (2008-2015)

Imperial College London, London, UK (2007)

Max-Planck for Heart and Lung Development, Bad Nauheim, Germany (2004-2006)

Martin Luther University Halle - Wittenberg, Faculty of Medicine, Institute of Physiological Chemistry, Halle (Saale), Germany, (2001-2006)

Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu (1999-2001).

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'J' or 'G' followed by a horizontal stroke.

Bibliografia

1. Zielonka, D., Mielcarek, M., and Landwehrmeyer, G.B. 2015. Update on Huntington's disease: advances in care and emerging therapeutic options. *Parkinsonism Relat Disord* 21:169-178.
2. Kay, C., Collins, J.A., Miedzybrodzka, Z., Madore, S.J., Gordon, E.S., Gerry, N., Davidson, M., Slama, R.A., and Hayden, M.R. 2016. Huntington disease reduced penetrance alleles occur at high frequency in the general population. *Neurology* 87:282-288.
3. Novak, M.J., and Tabrizi, S.J. 2010. Huntington's disease. *BMJ* 340:c3109.
4. Walker, F.O. 2007. Huntington's disease. *Lancet* 369:218-228.
5. Yamamoto, A., Lucas, J.J., and Hen, R. 2000. Reversal of neuropathology and motor dysfunction in a conditional model of Huntington's disease. *Cell* 101:57-66.
6. Li, S.H., Schilling, G., Young, W.S., 3rd, Li, X.J., Margolis, R.L., Stine, O.C., Wagster, M.V., Abbott, M.H., Franz, M.L., Ranen, N.G., et al. 1993. Huntington's disease gene (IT15) is widely expressed in human and rat tissues. *Neuron* 11:985-993.
7. Hoogeveen, A.T., Willemsen, R., Meyer, N., de Rooij, K.E., Roos, R.A., van Ommen, G.J., and Galjaard, H. 1993. Characterization and localization of the Huntington disease gene product. *Hum Mol Genet* 2:2069-2073.
8. Zeitlin, S., Liu, J.P., Chapman, D.L., Papaioannou, V.E., and Efstratiadis, A. 1995. Increased apoptosis and early embryonic lethality in mice nullizygous for the Huntington's disease gene homologue. *Nat Genet* 11:155-163.
9. Trottier, Y., Devys, D., Imbert, G., Saudou, F., An, I., Lutz, Y., Weber, C., Agid, Y., Hirsch, E.C., and Mandel, J.L. 1995. Cellular localization of the Huntington's disease protein and discrimination of the normal and mutated form. *Nat Genet* 10:104-110.
10. van der Burg, J.M., Bjorkqvist, M., and Brundin, P. 2009. Beyond the brain: widespread pathology in Huntington's disease. *Lancet Neurol* 8:765-774.
11. Sassone, J., Colciago, C., Cislighi, G., Silani, V., and Ciammola, A. 2009. Huntington's disease: the current state of research with peripheral tissues. *Exp Neurol* 219:385-397.
12. Saudou, F., and Humbert, S. 2016. The Biology of Huntingtin. *Neuron* 89:910-926.
13. Mielcarek, M. 2015. Huntington's disease is a multi-system disorder. *Rare Dis* 3:e1058464.
14. Mielcarek, M., Inuabasi, L., Bondulich, M.K., Muller, T., Osborne, G.F., Franklin, S.A., Smith, D.L., Neueder, A., Rosinski, J., Rattray, I., et al. 2014. Dysfunction of the CNS-heart axis in mouse models of Huntington's disease. *PLoS Genet* 10:e1004550.
15. Mielcarek, M., Bondulich, M.K., Inuabasi, L., Franklin, S.A., Muller, T., and Bates, G.P. 2014. The Huntington's disease-related cardiomyopathy prevents a hypertrophic response in the R6/2 mouse model. *PLoS One* 9:e108961.
16. Toczek, M., Zielonka, D., Zukowska, P., Marcinkowski, J.T., Slominska, E., Isalan, M., Smolenski, R.T., and Mielcarek, M. 2016. An impaired metabolism of nucleotides underpins a novel mechanism of cardiac remodeling leading to Huntington's disease related cardiomyopathy. *Biochim Biophys Acta* 1862:2147-2157.
17. Zielonka, D., Piotrowska, I., Marcinkowski, J.T., and Mielcarek, M. 2014. Skeletal muscle pathology in Huntington's disease. *Front Physiol* 5:380.
18. Sorensen, S.A., and Fenger, K. 1992. Causes of death in patients with Huntington's disease and in unaffected first degree relatives. *J Med Genet* 29:911-914.
19. Chiu, E., and Alexander, L. 1982. Causes of death in Huntington's disease. *Med J Aust* 1:153.
20. Lanska, D.J., Lavine, L., Lanska, M.J., and Schoenberg, B.S. 1988. Huntington's disease mortality in the United States. *Neurology* 38:769-772.
21. Kosinski, C.M., Schlangen, C., Gellerich, F.N., Gizatullina, Z., Deschauer, M., Schiefer, J., Young, A.B., Landwehrmeyer, G.B., Toyka, K.V., Sellhaus, B., et al. 2007. Myopathy as a first symptom of Huntington's disease in a Marathon runner. *Mov Disord* 22:1637-1640.



22. Busse, M.E., Hughes, G., Wiles, C.M., and Rosser, A.E. 2008. Use of hand-held dynamometry in the evaluation of lower limb muscle strength in people with Huntington's disease. *J Neurol* 255:1534-1540.
23. Mangiarini, L., Sathasivam, K., Seller, M., Cozens, B., Harper, A., Hetherington, C., Lawton, M., Trottier, Y., Lehrach, H., Davies, S.W., et al. 1996. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* 87:493-506.
24. Lin, C.H., Tallaksen-Greene, S., Chien, W.M., Cearley, J.A., Jackson, W.S., Crouse, A.B., Ren, S., Li, X.J., Albin, R.L., and Detloff, P.J. 2001. Neurological abnormalities in a knock-in mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 10:137-144.
25. Mielcarek, M., Zielonka, D., Carnemolla, A., Marcinkowski, J.T., and Guidez, F. 2015. HDAC4 as a potential therapeutic target in neurodegenerative diseases: a summary of recent achievements. *Front Cell Neurosci* 9:42.
26. Garriga-Canut, M., Agustin-Pavon, C., Herrmann, F., Sanchez, A., Dierssen, M., Fillat, C., and Isalan, M. 2012. Synthetic zinc finger repressors reduce mutant huntingtin expression in the brain of R6/2 mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:E3136-3145.
27. Schaefer, K.A., Wu, W.H., Colgan, D.F., Tsang, S.H., Bassuk, A.G., and Mahajan, V.B. 2017. Unexpected mutations after CRISPR-Cas9 editing in vivo. *Nat Methods* 14:547-548.
28. Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M.C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M., FitzHugh, W., et al. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409:860-921.
29. Herchenroder, O., Hahne, J.C., Meyer, W.K., Thiesen, H.J., and Schneider, J. 1999. Repression of the human immunodeficiency virus type 1 promoter by the human KRAB domain results in inhibition of virus production. *Biochim Biophys Acta* 1445:216-223.

