

Doctor Honoris Causa



PROF. ANDERS GRUBB

Nadanie
Profesorowi Andersowi Grubbowi
tytułu doktora honoris causa
Uniwersytetu Gdańskiego

Awarding the title
of doctor honoris causa
of the University of Gdańsk
to Professor Anders Grubb

Uniwersytet Gdański

Nadanie
Profesorowi Andersowi Grubbowi
tytułu doktora honoris causa
Uniwersytetu Gdańskiego

Awarding the title
of doctor honoris causa
of the University of Gdańsk
to Professor Anders Grubb

GDAŃSK

28 WRZEŚNIA 2018

Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego
Gdańsk 2018

Redakcja merytoryczna
Aneta Szymańska

Redakcja wydawnicza
Katarzyna Jopek

Projekt okładki i stron tytułowych
Jakub Kozak

Skład i łamanie
PRACOWNIA



DZS UB I/18

Publikacja sfinansowana ze środków Dzickana Wydziału Chemii
Uniwersytetu Gdańskiego

© Copyright by Uniwersytet Gdański
Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego

ISBN 978-83-7865-722-4

Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego
ul. Armii Krajowej 119/121, 81-824 Sopot
tel./fax 58 523 11 37, tel. 725 991 206
e-mail: wydawnictwo@ug.edu.pl
www.wyd.ug.edu.pl

Księgarnia internetowa: www.kiw.ug.edu.pl



Biblioteka Główna
UNIwersytetu GDAŃSKIEGO



1100918798

1923/19

10-

Table of contents / Spis treści

Program of the ceremonial Senate meeting convened to confer
the title of doctor honoris causa of the University
of Gdańsk upon Professor Anders Grubb | 6

Program uroczystego posiedzenia Senatu zwołanego celem
nadania prof. Andersowi Grubbowi tytułu doktora honoris causa
Uniwersytetu Gdańskiego | 7

Curriculum vitae | 13

Laudatio (Zbigniew Grzonka) | 17

Laudacja (Zbigniew Grzonka) | 21

Opinion (Ulf Lerner) | 25

Opinia (Ulf Lerner) | 31

Opinion (Mariusz Jaskólski) | 37

Opinia (Mariusz Jaskólski) | 43

Opinion (Jerzy Ciarkowski) | 49

Opinia (Jerzy Ciarkowski) | 53

Anders Grubb's narrative of Polish-Swedish
cystatin research 1988–2018 | 57

Anders Grubb, O polsko-szwedzkich badaniach nad cystatyną C
w latach 1988–2018 | 63

Program of the ceremonial Senate meeting convened to confer the title of doctor honoris causa of the University of Gdańsk upon Professor Anders Grubb

28 September 2018, Hall of the Faculty of Chemistry, University of Gdańsk

- Entrance of the ceremonial retinue
- Polish national anthem
- Opening of the ceremonial Senate meeting; welcome and introduction
Professor Jerzy Piotr Gwizdała, Rector of the University of Gdańsk
- *Laudatio*
Professor Zbigniew Grzonka, promoter of the honorary doctorate
- Reading of the content of the diploma
Professor Mariusz Makowski, Dean of the Faculty of Chemistry
- Conferment of the honorary doctorate in the presence of reviewers:
Professor Jerzy Ciarkowski, Professor Mariusz Jaskólski, and Professor
Ulf Lerner
Professor Jerzy Piotr Gwizdała, Rector of the University of Gdańsk
- *Gaudeamus Igitur*
- Lecture
Professor Anders Grubb, doctor honoris causa of the University of Gdańsk
- Congratulations to the doctor honoris causa and presentation of congratulatory letters
- Performance by the Academic Choir of the University of Gdańsk under the direction of Professor Marcin Tomczak
- Closing of the ceremony
Professor Jerzy Piotr Gwizdała, Rector of the University of Gdańsk

Program uroczystego posiedzenia Senatu zwołanego celem nadania prof. Andersowi Grubbowi tytułu doktora honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego

28 września 2018, Audytorium Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego

- Wejście uroczystego orszaku
- Odśpiewanie hymnu Polski
- Otwarcie uroczystego posiedzenia Senatu i powitanie Gości
prof. Jerzy Piotr Gwizdała, JM Rektor UG
- Laudacja
prof. Zbigniew Grzonka, promotor w przewodzie doktorskim
- Odczytanie treści dyplomu doktorskiego
prof. Mariusz Makowski, Dziekan Wydziału Chemii UG
- Przyznanie honorowego doktoratu w obecności recenzentów: prof. Jerzego Ciarkowskiego, prof. Mariusza Jaskólskiego i prof. Ulfa Lerner
prof. Jerzy Piotr Gwizdała, JM Rektor UG
- Odśpiewanie *Gaudeamus Igitur*
- Wykład
prof. Anders Grubb, doktor honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego
- Złożenie życzeń i gratulacji doktorowi honoris causa
- Koncert Akademickiego Chóru Uniwersytetu Gdańskiego pod dyktando prof. Marcina Tomczaka
- Zamknięcie uroczystości
prof. Jerzy Piotr Gwizdała, JM Rektor UG



ANDERS GRUBB

Q.F.F.



F.Q.S.

Summis Auspiciis Serenissimae Rei Publicae Polonorum

Nos
Universitatis Gedanensis Rector Magnificus
et
Chimicorum Facultatis Decanus Spectabilis
atque
Promotor rite constitutus

Amplissimo Senatu Universitatis consentiente
quod decreto die XXVIII mensis Aprilis anno MMXVIII
facto confirmatum est
in

Professorem Clarissimum

Andream Grubb

qui in chimia medicinali excolenda prosperos successus adeptus est
atque
hominibus doctis in Universitate Studiorum Gedanensi chimiae deditis
novas investigationum vias ostendit aperuitque

**DOCTORIS HONORIS CAUSA
UNIVERSITATIS GEDANENSIS**

titulum iura et privilegia omnia contulimus
in eiusque rei fidem hoc diploma Universitatis Gedanensis sigillo sanciri iussimus
datum Gedani die XXVIII mensis Septembris anno MMXVIII

Marius Makowski

Georgius Petrus Gwizdała

Sbigneus Grzonka

Decanus

Rector

Promotor



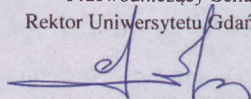
Grubb
2018

Uchwała nr 17/18
Senatu Uniwersytetu Gdańskiego
z dnia 26 kwietnia 2018 roku

w sprawie nadania Panu Profesorowi Andersowi Grubbowi
tytułu doktora honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego

Na podstawie § 11 Statutu Uniwersytetu Gdańskiego z dnia 8 czerwca 2006 roku ze zm.
– Senat Uniwersytetu Gdańskiego nadaje Panu Profesorowi Andersowi Grubbowi z Lund University w Szwecji tytuł doktora honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego za wybitne osiągnięcia w zakresie chemii medycznej oraz wpływ na rozwój nowej tematyki badawczej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego.

Przewodniczący Senatu
Rektor Uniwersytetu Gdańskiego



dr hab. Jerzy Piotr Gwiżdżała
profesor nadzwyczajny



Rector Professor Jerzy P. Gwizdala

Prof. Anders Grubb

Dear Sir,

I have the great honor to inform you that the Senate of the University of Gdańsk has awarded you the title of Doctor Honoris Causa of the University of Gdańsk for your extraordinary scientific achievements in medicinal chemistry and contribution to the development of new research areas at the Faculty of Chemistry of the University of Gdańsk.

As the attachment I am hereby sending you the Senate decree.

I have a great pleasure of inviting you to the ceremony which is going to take place between the 20th and 30th of September 2018 at the University of Gdańsk.

I hope you will be able to attend the ceremony and we will be able to celebrate it together with the whole academic community of University of Gdańsk.

Sincerely yours,

Prof. Jerzy P. Gwizdala

Rector of the University of Gdańsk

Curriculum vitae

Anders Grubb

Higher education degrees

- MD graduation (med. lic. and läkarlegitimation) in November 1975

Doctoral degree

- PhD graduation in Clinical Chemistry in May 1974. Title: *Immunoglobulins and crossed immunoelectrophoresis*. Supervisor: Professor Carl Bertil Laurell

Postdoctoral positions

- 1975 at the New York University Medical Center
- 1980 at the Ramón y Cajal Institute at the University of Madrid

Docent-level

- since March 1976

Specialist certification

- specialist in Clinical Chemistry in July 1978

Present position

- employed since November 2011 as Senior Professor at the Department of Clinical Chemistry and Pharmacology, Institute of Laboratory Medicine, University Hospital, Lund University, 221 85 Lund; research percentage: 80, teaching percentage: 20

Previous positions and periods of appointment

- laboratory assistant, Växjö lasarett 1964 and 1966
- “3:e amanuens” in Medicinal Chemistry, Lund University, 1967–1968
- “Underläkare, klinisk amanuens, forskarassistent” at the Departments of Internal Medicine, Drug Abuse, and Clinical Chemistry at Malmö General Hospital, Lund University, 1968–1978
- “Klinisk lärare och biträdande överläkare” at the Department of Clinical Chemistry, Malmö General Hospital, Lund University, 1978–1989
- Full Professor and senior physician (“överläkare”) at the Department of Clinical Chemistry and Pharmacology, University Hospital, Lund University, 1989–2011

Supervision of graduate students (name, year of graduation)

- main supervisor of 15 graduate students: Lars Tejler (1978), Cristina Glad (1981), Helge Löfberg (1982), Magnus Abrahamson (1989), Ísleifur Ólafsson (1994), Lennart Ljunggren (1994), Christian Freiburghaus (1998), María Bjarnadóttir (2000), Lisa Leickt (2001), Meirav Holmdahl (2005), Maria Wahlbom (2007), Maj-Linda Bardhyl-Selenica (2007), Bogdan Luca (2008), Gustav Östner (2013), Veronica Lindström (2013)

Supervision of postdocs (name, postdoc years)

- Milagros Balbin (1993–1995), Aftab Jasir (2002–2003), Ewa Wiczerzak (2003–2004), Xin Wang (2002–2005), Joanna Pollak (2009)

Current supervision of graduate students (name, subject, anticipated date of graduation)

- Jenny Apelqvist, 740123-3924: *The protease inhibitor cystatin C: Elucidation of its role in tumor biology and as markers for cancer and glomerular filtration rate*, 2018
- Erik Herou, 850711-4133: *Studies of “Shrunken Pore Syndrome”*, 2019

Papers

- 339 papers published or under publication in international journals, i.a.: Clin. Chem. (7), J. Biol. Chem. (19), Proc. Natl. Acad. Sci. USA (4), Clin. Chem. Lab. Med. (7), PLoS One (2), Nature (1), Nature Struct. Biol. (1), Nature Genetics (1), Am. J. Kidney Dis. (2), Kidney Internat. (4), J. Immunol. (6), Lancet (1), New Engl. J. Med. (1), Biochemistry (1), J. Clin. Invest. (1), Anal. Biochem. (3), Neuron (1)

Patents

- main inventor of 10 patents

Reviewer of international journals

- Clin. Chem., J. Biol. Chem., Nature Kidney, Am. J. Kidney Dis., Scand. J. Clin. Lab. Invest.

Research areas

- characterization of protein structure and function, especially cystatin C
- characterization of amyloid oligomers and studies on how to prevent their formation
- use of proteins to diagnose and characterize disease, especially cystatin C to diagnose and characterize kidney disease

Awards

- 1984: Poul Astrup's Award for distinguished research in clinical chemistry
- 1987: Eric K. Fernström's Award for distinguished biomedical research
- 1989: Kone Award of the British Association of Clinical Biochemistry for distinguished research in clinical chemistry
- 1991: Jubilee Award of the Swedish Society of Medical Sciences for distinguished scientific work
- 2007: Order of the Falcon for successful cooperation with/education of Icelandic scientists
- 2010: Lorentz Eldjarn's Award
- 2016: Lorentz Eldjarn's Award

Laudatio

by Professor Zbigniew Grzonka

translation from Polish original – dr hab. Aleksandra Kołodziejczyk, prof. UG

***Laudatio* by Professor Zbigniew Grzonka
on the occasion of the ceremony of conferring the title
of doctor honoris causa of the University of Gdańsk
upon Professor Anders Grubb**

Your Magnificence Rector,
High Senate,
Honourable Doctor Grubb,

we have gathered here today to honour Professor Anders Grubb from Lund University, a world-renowned scholar, a well-known friend of Polish researchers, in particular from the University of Gdańsk, with the highest title our Alma Mater can bestow. I am very pleased that I can present on this occasion the scientific profile of the Professor, with whom I have long-term scientific bonds and whom I dare call my friend.

Professor Anders Grubb, a medical doctor by education, passionate chemist, graduated from Lund University in 1968. He received his doctorate in the field of medical chemistry in 1974. From the period of his university studies come the first publications that began his brilliant scientific career. The year 1979 was particularly fruitful for his scientific achievements: that year he described the isolation from urine of a protein, called cystatin C, the function of which was not known at that time, and which in a short time turned out to be the most important inhibitor of cysteine proteases. This relatively small protein, with 120 amino acid residues, is characterized by one of the highest inhibition constants known so far. Professor Grubb relatively quickly established the amino acid sequence of cystatin C, and soon also the sequences of its fragments responsible for the inhibition of cysteine proteases. He discovered that cystatin C is found in all human bodily fluids, including cerebrospinal fluid, performing there the protective function for the central nervous system. Professor Grubb quickly linked the fact that cystatin C was isolated from human urine to the function of the kidneys, and he proposed that the protein could be used as a biomarker for the function of this important human organ. The method he developed to determine the level of cystatin C in plasma is the most accurate test for detecting glomerular filtration disorders known in nephrology.

Professor Grubb's scientific achievements are truly impressive. He has published about 340 scientific works on a global scale so far, and this achievement has been an inspiration for research carried out in other centres, which can be indirectly demonstrated by the fact that his works have been

cited over 19,000 times, and by a Hirsch index of nearly 70, which is one of the highest known.

Professor Grubb's academic achievements include 35 publications resulting from his cooperation with the team of peptide chemists from the University of Gdańsk, led by myself. Later, this group was joined by a group of crystallographers from the Adam Mickiewicz University in Poznań, headed by Professor Mariusz Jaskólski. Our cooperation began in the 1980s, when Professor Grubb established the sequence of the *N*-terminal fragment of cystatin C responsible for the inhibition of cysteine proteases. To confirm his findings, we synthesized many peptides and their analogues. Most of them showed inhibitory effects, and some of them were also characterized by antibacterial and antiviral activity. One of these compounds, synthesized by Professor Franciszek Kasprzykowski, called Cystapep-I, is used as an antiviral medicine. Our cooperation was strengthened as a result of very fruitful cystatin conferences, full of heated scientific discussion, organized alternately in Poland and Sweden.

The most important achievement of cooperation in the Lund – Gdańsk – Poznań triangle was the establishment in 2001 of the crystalline structure of the cystatin C dimer. The discovery of cystatin C dimerization confirmed the possibility of oligomerization of peptides and proteins through the domain exchange mechanism. This, if only because of the presence of cystatin C in the amyloid deposits found in the brain, was important for many studies on the mechanism of amyloidogenesis. By establishing the crystal structure of the cystatin C dimer, it was possible to explain the causes of amyloid angiopathy, a rare incurable genetic disease occurring especially in Iceland, which was studied by Professor Grubb's team for many years. For this research, Professor Grubb received the highest award from the President of Iceland – the Order of the Falcon.

In this brief *laudatio* it is impossible to mention all the important accomplishments of Professor Anders Grubb, and there are many of them. They were mentioned in more detail in the reviews of the honorary doctorate prepared by Professors Mariusz Jaskólski from the Adam Mickiewicz University in Poznań, Ulf Lerner from the University of Gothenburg, and Jerzy Ciarowski from our University. All reviews underline the exceptional scientific achievements of Professor Anders Grubb. Let me quote only a fragment from the review of Professor Jaskólski: "This doctorate [...] is an award punctuating the magnificent scholarly accomplishments of Professor Anders Grubb as well as his lasting contribution to chemistry and medicine. The honorary doctorate of the University of Gdańsk bestowed on Professor Anders Grubb is a prominent example of this wonderful situation of mutual distinction: an award conferred upon a laureate at the same time nobilitates the granting

institution, which proudly inscribes another great name into the register of its doctors: medical doctor and professor, doctor honoris causa of the University of Gdańsk, Anders Grubb”.

Prof. dr hab. Zbigniew Grzonka
retired professor
University of Gdańsk

Laudacja

prof. Zbigniewa Grzonki

**Laudacja prof. Zbigniewa Grzonki
z okazji nadania tytułu doktora honoris causa
Uniwersytetu Gdańskiego prof. Andersowi Grubbowi**

Magnificencjo Panie Rektorze,
Wysoki Senacie,
Wielce Dostojny Doktorze Honorowy,

zebraliśmy się tu dzisiaj, aby uhonorować najwyższym tytułem naszej Alma Mater prof. Andersa Grubba z Uniwersytetu w Lund, światowej sławy uczonego i wypróbowanego przyjaciela polskich badaczy, w szczególności z Uniwersytetu Gdańskiego. Jest mi niezmiernie miło, że mogę z tej okazji przedstawić sylwetkę naukową profesora, z którym łączą mnie długoletnie więzi naukowe i którego śmiem nazwać moim przyjacielem.

Profesor Anders Grubb, z wykształcenia lekarz, z pasji chemik, ukończył studia medyczne na Uniwersytecie w Lund w roku 1968. Doktorat w dziedzinie chemii medycznej uzyskał w 1974 roku. Z okresu studiów pochodzą pierwsze publikacje, które zapoczątkowały jego błyskotliwą karierę naukową. Szczególnie owocny dla jego dorobku naukowego okazał się 1979 rok, kiedy to opisał wyizolowanie z moczu białka nazwanego cystatyną C, którego funkcji wówczas nie znano, a które w niedługim czasie okazało się najważniejszym inhibitorem proteaz cysteinowych. To stosunkowo niewielkie białko, o 120 resztach aminokwasowych, charakteryzuje się jedną z najwyższych z dotychczas znanych stałych inhibicji. Profesor Grubb stosunkowo szybko ustalił sekwencję aminokwasową cystatyny C, a niedługo potem także sekwencje jej fragmentów odpowiedzialnych za inhibowanie proteaz cysteinowych. Stwierdził, że cystatyna C występuje we wszystkich płynach ustrojowych człowieka, w tym w płynie mózgowo-rdzeniowym, pełniąc tam funkcję ochronną dla centralnego układu nerwowego. Profesor Grubb fakt wyizolowania cystatyny C z moczu człowieka powiązał szybko z funkcją nerek, dzięki czemu ustalił, że białko to może zostać wykorzystane jako biomarker funkcji tego ważnego ludzkiego organu. Opracowana przez niego metoda oznaczania poziomu cystatyny C w osoczu jest najdokładniejszym znanym w nefrologii testem wykrywającym zaburzenia przesączania kłębuszkowego.

Dorobek naukowy prof. Grubba jest zaiste imponujący. Opublikował on dotychczas około 340 prac naukowych o zasięgu ogólnosiwiatowym, które były i są inspiracją dla wielu badań prowadzonych w innych ośrodkach. Pośrednio może świadczyć o tym fakt, że jego prace cytowano już

ponad 19 tysięcy razy i ma on jeden z najwyższych wskaźników Hirscha, wynoszący blisko 70.

Dorobek prof. Grubba obejmuje 35 publikacji będących efektem jego współpracy z kierowanym przeze mnie zespołem chemii peptydów z Uniwersytetu Gdańskiego. Później do tej współpracy dołączyła także grupa krystalografów z Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, kierowana przez prof. Mariusza Jaskólskiego. Współpracę nawiązaliśmy w latach osiemdziesiątych ubiegłego wieku, kiedy to prof. Grubb ustalił sekwencję *N*-końcowego fragmentu cystatyny C odpowiedzialnego za inhibowanie proteaz cysteinowych. Aby ją potwierdzić, zsyntezowaliśmy wiele peptydów oraz ich analogi. Większość z nich wykazywała działania inhibicyjne, a niektóre z nich charakteryzowały się także aktywnością przeciwbakteryjną i przeciw-wirusową. Jeden z tych związków, zsyntezowany przez prof. Franciszka Kasprzykowskiego, zwany Cystapep-1, jest stosowany jako lek antywirusowy. Intensyfikacji naszej współpracy sprzyjały bardzo owocne robocze konferencje cystatynowe pełne ożywionych dyskusji naukowych, organizowane naprzemiennie w Polsce i w Szwecji.

Najważniejszym osiągnięciem współpracy w trójkącie Lund – Gdańsk – Poznań było ustalenie w 2001 roku struktury krystalicznej dimeru cystatyny C. Odkrycie dimeryzacji cystatyny C potwierdziło po raz pierwszy możliwość oligomeryzacji peptydów i białek poprzez mechanizm wymiany domen, co chociażby z uwagi na występowanie cystatyny C w złogach amyloidowych w mózgu było ważne dla wielu badań prowadzonych nad mechanizmem amyloidogenezy. Dzięki ustaleniu struktury krystalicznej dimeru cystatyny C możliwe było wyjaśnienie przyczyn angiopatii amyloidowej, rzadkiej nieuleczalnej choroby genetycznej występującej szczególnie w Islandii, której badaniem zespół prof. Grubba zajmował się przez wiele lat. Za te ostatnie badania prof. Grubb otrzymał z rąk prezydenta Islandii najwyższe odznaczenie – Order Sokoła Islandzkiego.

W tej krótkiej laudacji nie sposób wymienić wszystkich ważnych osiągnięć prof. Andersa Grubba, a jest ich bardzo wiele. Zostały one przedstawione bardziej szczegółowo w recenzjach przewodu doktoratu honorowego przygotowanych przez prof. Mariusza Jaskólskiego z Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, prof. Ulfa Lerner z Uniwersytetu w Göteborgu oraz prof. Jerzego Ciarkowskiego z naszego Uniwersytetu. Wszystkie recenzje podkreślają wyjątkowe osiągnięcia naukowe prof. Andersa Grubba. Pozwólcie państwo, że zacytuję tylko fragment z recenzji prof. Jaskólskiego: „Doktorat ten [...] jest wyróżnieniem ogromnego dorobku naukowego prof. Andersa Grubba oraz jego trwałego wkładu w rozwój chemii i medycyny. Doktorat honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego dla prof. Andersa Grubba to przykład niezwykle pięknej sytuacji, w której zaszczytnym tytułem wyróżniany

jest dostojny kandydat, a jednocześnie sama uczelnia z dumą powiększa krąg swoich wybitnych doktorów honorowych, dopisując do ich grona jeszcze jedno wielkie nazwisko: lekarz i profesor, doktor honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego – Anders Grubb”.

Prof. dr hab. Zbigniew Grzonka
emerytowany profesor
Uniwersytet Gdański

Opinion

by Professor Ulf Lerner

**Opinion by Professor Ulf Lerner
about the scientific achievements
of Professor Anders Grubb in connection
with the application for granting him the title of doctor
honoris causa of the University of Gdańsk**

Deeply honoured by the Faculty of Chemistry at the University of Gdańsk to comment on the scientific career of Professor Anders Grubb with special reference to his collaboration with the University of Gdańsk, I hereby deliver my opinion.

Biographical overview

Professor Anders Grubb was graduated as PhD in 1974 and as MD in 1975 at Lund University. He has held postdoc positions at the New York University Medical Center in 1975 and at the Ramón y Cajal Institute at the University of Madrid in 1980. He became a specialist in clinical chemistry in 1978.

Anders Grubb has been a clinical teacher and a consultant physician at the Department of Clinical Chemistry, University Hospital, Lund University in the years 1978–1989, and Full Professor and senior physician at the same department in the years 1989–2011. Since 2011 he is employed there as Senior Professor.

Starting from 1969, Professor Grubb has published 339 original papers, book chapters, and reviews. It is of note that he still is an active scientist publishing extensively. Many of these papers have been published in prestigious journals such as *Journal of Biological Chemistry*, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *Nature*, *Nature Structural Biology*, *Nature Genetics*, *Lancet*, *New England Journal of Medicine*, and *Journal of Clinical Investigation and Biochemistry*. His papers have attracted impressive international recognition, as demonstrated by the fact that they have been cited more than 16,000 times, with an average citation per item of 41. Eight papers have been cited more than 300 times and 48 papers more than 100 times. He has a most impressive Hirsch index of 67.

Professor Grubb has been the main supervisor for 15 graduate students who have defended their theses and he is currently the main supervisor for two graduate students. He has supervised five postdocs. Two of them were from Poland – one from the University of Gdańsk and one from the Collegium Medicum of the Nicolaus Copernicus University in Bydgoszcz – and together with Professor Grubb they have published seven papers.

Professor Grubb has been recognized as a distinguished scientist by several associations and by the Icelandic government and he has received several prestigious awards:

- Poul Astrup's Award for distinguished research in clinical chemistry in 1984,
- Eric K. Fernström's Award for distinguished biomedical research in 1987,
- Kone Award of the British Association of Clinical Biochemistry for distinguished research in clinical chemistry in 1989,
- Jubilee Award of the Swedish Society of Medical Sciences for distinguished scientific work in 1991,
- Order of the Falcon of Iceland for successful cooperation with/education of Icelandic scientists in 2007,
- Lorentz Eldjarn's Award in 2010,
- Lorentz Eldjarn's Award in 2016.

Scientific achievements

Professor Grubb has a long-lasting career in chemistry, starting from 1970, 47 years ago, at the Department of Clinical Chemistry, Faculty of Medicine, at Lund University in Sweden. His interest during the first years was devoted to studies on immunoglobulins and the title of his PhD thesis is *Immunoglobulins and crossed immunoelectrophoresis*. During the late 1970s, he turned his interest to what has been his main scientific focus then and which has led him to the very fruitful collaboration with the University of Gdańsk. This interest started with a report published in *Scandinavian Journal of Laboratory Investigation* in 1979, in which he quantified "gamma-trace" in biological fluids and found indications that it was produced in the central nervous system. The report was followed by several other publications during the 1980s demonstrating the presence of "gamma-trace" in different body fluids, organs, tissues, and cells. Grubb reported the amino acid sequence of "gamma-trace" in 1982 in *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, but the sequence did not give any clue to the function of this protein since it had no homology to any other proteins known and sequenced at that time.

The first hints of a function came when it was discovered that a protein in egg white cystatin, which was bound to a column containing the protease papain, had an amino acid sequence homologous to "gamma-trace". This observation led to the discovery that "gamma-trace" is an inhibitor of papain, i.e., its important function is to serve as a protease inhibitor. "Gamma-trace" was subsequently given the name cystatin C. It has been found that cystatin C is one of the most important extracellular cysteine protease inhibitors.

Having realized that “gamma-trace”, or cystatin C, is an important cysteine protease inhibitor, Professor Grubb continued with studies trying to elucidate the structure of the protein and how the structure is related to the protease inhibitory activity. The aim was to use the knowledge on the structure of the inhibitory site to synthesize low-molecular-weight substances which could mimic the protease inhibitory activity of cystatin C. By chance it was discovered that cystatin C fractions lacking the most amino-terminal part lost a lot of its inhibitory activity, indicating the important role of this part of the molecule. This hypothesis has later been confirmed when recombinant cystatin C could be produced and when site-directed mutagenesis showed that the amino-terminal end, together with the second hairpin loop, are crucial for its protease inhibitory activity. Once it was realized that the amino-terminal segment was important, Professor Grubb tried to find chemists able to synthesize peptidyl derivatives which could mimic the amino acid sequence of this segment. Facilitated by a Polish chemist in Sweden, Jerzy Trojnar, in 1986 he contacted Professor Zbigniew Grzonka at the University of Gdańsk, which was the starting point of the very fruitful collaboration between Professor Grubb and the Faculty of Chemistry at the University of Gdańsk.

Professor Grzonka and his collaborators, among them Franciszek Kasprzykowski and Leszek Łankiewicz, synthesized several peptidyl derivatives which, like cystatin C, could function as cysteine protease inhibitors. Interestingly, some of the inhibitors also showed anti-viral and anti-bacterial activity. It was the publication in *Nature* in 1989 describing that one such peptidyl derivative could inhibit the growth of group A streptococci *in vitro* and *in vivo* by inhibiting bacterial proteases which alerted myself to the role of cystatin C as an extracellular protease inhibitor. In collaboration with Professor Grubb and scientists at the Faculty of Chemistry in Gdańsk my group has subsequently published a series of papers demonstrating that peptidyl derivatives, based upon the active site of cystatin C, can inhibit the breakdown of bone and, more surprisingly, inhibit the differentiation of bone resorbing osteoclasts.

The complete characterization of the function of cystatin C has been revealed by studies on the three-dimensional structure of cystatin C, an area in which Professor Grubb has successfully collaborated with Polish scientists at the Faculty of Chemistry in Gdańsk and with crystallographers at the Adam Mickiewicz University of Poznań, including Mariusz Jaskólski, Robert Janowski, and Maciej Kozak. After the initial three-dimensional structure of crystalline dimeric cystatin C, formed by domain-swapping, had been demonstrated in a paper in *Nature Structural Biology* in 2001, the three-dimensional structure of monomeric cystatin C was also revealed. These findings have been crucial for firm conclusions regarding the structure,

function, and stability of cystatin C. Interestingly, other very well recognized international groups had, prior to the successful collaboration with the Polish groups, failed to obtain reliable three-dimensional structure of the recombinant cystatin C protein provided by Professor Grubb.

Professor Grubb has not only investigated the structure and function of cystatin C but also demonstrated its role in several patho-physiological conditions. He has studied how cystatin C is catabolized and excreted by the kidneys and found that circulating levels of cystatin C is the best marker for kidney function. Nowadays, analysis of cystatin C is used clinically to monitor kidney function. The interest and acceptance of Professor Grubb's studies in this field is indicated by the fact that more than 3,500 studies have been published emphasizing the role of cystatin C in monitoring kidney function. His vast knowledge in the biology of cystatin C has recently resulted in his discovery of a new renal pathological condition called "Shrunken Pore Syndrome". Professor Grubb has also played a most important role for the discovery that the inherent disease originally called "hereditary brain haemorrhage" in the Icelandic population is caused by a L68Q mutation in the cystatin C gene. In subsequent studies, again in collaboration with Polish scientists in Gdańsk and Poznań, he has shown how this mutation makes the mutated cystatin C to form oligomers and then amyloid fibrils, which is a pathogenetic mechanism in the Icelandic disease, nowadays called "cerebral amyloid angiopathy", associated with brain haemorrhage, stroke, and dementia. By using peptidyl derivatives they have also shown how the oligomerization can be inhibited. These observations may not only be of importance for the formation of amyloid aggregations in cerebral amyloid angiopathy but also in diseases such as Alzheimer's and Parkinson's.

Summary

Professor Grubb has an outstanding scientific track record and is certainly a scientist in the international front. He has been able to combine clinical medicine with excellent knowledge in chemistry and biochemistry which has led to his important contributions not only to basic scientific knowledge in the biology of cystatin C molecule but also to discovering its importance in kidney function and role in amyloid formation in diseases such as cerebral amyloid angiopathy. In these achievements, Polish scientists at the Faculty of Chemistry in Gdańsk have played a most crucial role. The collaborations between Professor Anders Grubb and his co-workers in Lund and Polish scientists in Gdańsk and Poznań have resulted in a large amount of beautiful scientific findings and observations which have been published

in a long list of 35 papers appearing in many prestigious journals from the year 1990. This collaboration has been most instrumental for the fact that Professor Grubb is a world leading scientist in the structure and function of cystatin C, spanning from basic chemistry to biochemistry and function and to the role of cystatin C in pathological conditions.

Gothenburg, 13 February 2018

Ulf H. Lerner, DDS, PhD

Senior Professor

Centre of Bone and Arthritis Research

Sahlgrenska Academy

University of Gothenburg

Opinia

prof. Ulfa Lenera

tłumaczenie z angielskiego oryginału – prof. Franciszek Kasprzykowski

Opinia prof. Ulfa Lenera o dorobku naukowym prof. Andersa Grubba w związku z wnioskiem o nadanie mu tytułu doktora honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego

Wielce zaszczycony przez Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego prośbą o komentarz na temat kariery naukowej prof. Andersa Grubba ze specjalnym uwzględnieniem jego współpracy z Uniwersytetem Gdańskim niniejszym wyrażam swoją opinię.

Rys biograficzny

Profesor Anders Grubb uzyskał stopień doktora nauk w 1974 roku i doktora medycyny w roku 1975 na Uniwersytecie w Lund. Następnie odbył staż podoktorski w New York University Medical Center oraz w Ramón y Cajal Institute Uniwersytetu w Madrycie w roku 1980. W 1978 roku został specjalistą w zakresie chemii klinicznej.

Anders Grubb był nauczycielem klinicystą oraz konsultującym lekarzem w Katedrze Chemii Klinicznej Szpitala Uniwersyteckiego Uniwersytetu w Lund w latach 1978–1989 oraz profesorem zwyczajnym i starszym lekarzem w tej samej katedrze w latach 1989–2011. Od 2011 roku jest tam zatrudniony jako profesor-senior.

Od początku swojej kariery naukowej w 1969 roku do chwili obecnej prof. Anders Grubb opublikował 339 oryginalnych prac naukowych, rozdziałów w książkach i prac przeglądowych. Należy zauważyć, iż jest on nadal bardzo aktywnym, publikującym naukowcem. Wiele jego artykułów naukowych ukazało się w prestiżowych czasopismach takich jak „Journal of Biological Chemistry”, „Proceedings of the National Academy of Sciences USA”, „Nature”, „Nature Structural Biology”, „Nature Genetics”, „Lancet”, „New England Journal of Medicine”, „Journal of Clinical Investigations” i „Biochemistry”. Jego publikacje cieszą się znacznym zainteresowaniem, o czym świadczy fakt, iż były one cytowane ponad 16 tysięcy razy (ze średnią cytawalnością pojedynczej publikacji wynoszącą ponad 41). Osiem jego artykułów było cytowanych ponad 300 razy, a 48 z nich więcej niż 100 razy. Uzyskał on imponujący indeks Hirscha wynoszący ponad 67.

Profesor Anders Grubb wypromował dotychczas 15 doktorantów, a obecnie jest promotorem dwóch. Był opiekunem pięciu naukowców przebywających na stażach post-doktorskich, w tym dwóch z Polski – z Uniwersytetu Gdańskiego oraz z Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika

w Bydgoszczy – którzy razem z prof. Andersem Grubbem wydali siedem publikacji.

Profesor Anders Grubb został uznany za wybitnego naukowca przez kilka towarzystw naukowych oraz przez rząd Islandii. Otrzymał też wiele prestiżowych nagród, wśród których znalazły się:

- Nagroda Poula Astrupa za wybitne badania w obszarze chemii klinicznej w 1984 roku,
- Nagroda Erica K. Fernströma za wybitne badania biomedyczne w 1987 roku,
- Nagroda Kone’a Brytyjskiego Towarzystwa Biochemii Klinicznej za wybitne badania w zakresie chemii klinicznej w 1989 roku,
- Nagroda Jubileuszowa Szwedzkiego Towarzystwa Nauk Medycznych za wybitną pracę naukową w 1991 roku,
- Order Sokoła Islandii za owocną współpracę naukową i dydaktyczną z naukowcami islandzkimi w 2007 roku,
- Nagroda Lorentza Eldjarna w 2010 roku,
- Nagroda Lorentza Eldjarna w 2016 roku.

Osiągnięcia naukowe

Profesor Anders Grubb rozpoczął swoją długoletnią karierę naukową w zakresie chemii w 1970 roku, 47 lat temu, w Katedrze Chemii Klinicznej Wydziału Medycyny Uniwersytetu w Lund w Szwecji. Pierwsze lata kariery poświęcił badaniom immunoglobulin. Tytuł jego rozprawy doktorskiej brzmiał *Immunoglobuliny i immunoforeza krzyżowa*. W końcu lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku przeniósł swoje zainteresowania na obszar, który stanowi główny przedmiot jego obecnych badań naukowych. W 1979 roku opublikował w „Scandinavian Journal of Laboratory Investigation” pracę, w której określił wartość białka *gamma trace* w płynach biologicznych i zasugerował, że powstaje ono w centralnym układzie nerwowym. W latach osiemdziesiątych powstało kilka następnych publikacji wykazujących obecność białka *gamma trace* w różnych płynach ustrojowych, organach, tkankach i komórkach. Anders Grubb opublikował sekwencję aminokwasową tego białka w 1982 roku w „Proceedings of the National Academy of Sciences USA”, lecz sama sekwencja nie dawała żadnych wskazówek dotyczących jego funkcji, ponieważ nie wykazywała homologii ze znanymi w tym czasie białkami.

Pierwsza wskazówka pojawiła się, gdy odkryto, że cystatyna białka kurzego, która wiązała się do fazy stacjonarnej kolumny zawierającej papainę (enzym z grupy proteaz cysteinowych), posiada sekwencję homologiczną do białka *gamma trace*. Obserwacja ta doprowadziła do odkrycia, że *gamma trace*

jest inhibitorem papainy oraz że jego ważną funkcją jest inhibicja proteaz. W związku z tym zmieniono nazwę tego białka na „cystatyna C”. Następnie stwierdzono, że cystatyna C jest jednym z najważniejszych zewnątrzkomórkowych inhibitorów proteaz cysteinowych.

Po odkryciu, że *gamma trace* czy też cystatyna C jest ważnym inhibitorem proteaz cysteinowych, prof. Anders Grubb kontynuował swoje badania, starając się ustalić wpływ struktury tego białka na zdolności inhibicyjne proteaz. Celem tych badań było zaprojektowanie i zsyntezowanie małych cząsteczkowych substancji, które mogłyby naśladować aktywność inhibicyjną cystatyny C wobec proteaz. Przypadkowo odkryto, że frakcje cystatyny C, które utraciły N-końcowy fragment, utraciły także większość aktywności inhibicyjnej, co wskazywało na ważną rolę tego fragmentu cząsteczki. Hipotezę tę potwierdzono w późniejszym czasie, gdy powstała możliwość uzyskania rekombinowanej cystatyny C, a miejscowe mutacje tego białka wykazały, że N-końcowy fragment sekwencji oraz druga pętla pełnią kluczową rolę w jego aktywności inhibitorowej. Gdy stało się jasne, jak istotny jest N-końcowy fragment cystatyny C, prof. Anders Grubb starał się znaleźć chemików, którzy potrafiliby zsyntezować pochodne peptydylowe mogące go naśladować. Za pośrednictwem polskiego chemika zamieszkałego w Szwecji, Jerzego Trojnara, skontaktował się z prof. Zbigniewem Grzonką z Uniwersytetu Gdańskiego, co dało początek jego bardzo owocnej współpracy z Wydziałem Chemii Uniwersytetu Gdańskiego.

Profesor Grzonka i jego współpracownicy, wśród nich Franciszek Kasprzykowski i Leszek Łankiewicz, zsyntezowali kilka pochodnych peptydowych, które, podobnie jak cystatyna C, mogły działać jako inhibitory proteaz cysteinowych. Interesujące jest, że niektóre z tych inhibitorów wykazywały także aktywność antywirusową i antybakteryjną. W roku 1989 w „Nature” opisano, że jedna z takich pochodnych peptydowych może inhibować wzrost streptokoków z grupy A *in vitro* oraz *in vivo* poprzez inhibicję proteaz cysteinowych, co skłoniło mnie do badania roli cystatyny C jako zewnątrzkomórkowego inhibitora proteaz. We współpracy z prof. Grubbem i naukowcami z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego moja grupa opublikowała szereg artykułów wykazujących, że pochodne peptydowe bazujące na miejscu aktywnym cystatyny C mogą hamować destrukcję kości i, co bardziej zaskakujące, hamować różnicowanie resorbujących kości osteoklastów.

Całkowitej charakterystyki funkcji cystatyny C dokonano dzięki badaniom struktury trójwymiarowej cystatyny C – w obszarze tym prof. Anders Grubb pomyślnie współpracował z polskimi naukowcami z Uniwersytetu Gdańskiego i krystalografami z Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, w tym z Mariuszem Jaskólskim, Robertem Janowskim i Maciejem Kozakiem. Po określeniu struktury przestrzennej krystalicznej dimerycznej cystatyny C tworzącej się na skutek wymiany domen i przedstawieniu jej w artykule

w „Nature Structural Biology” w 2001 roku odkryto także strukturę przestrzenną monomerycznej cystatyny C. Interesujący jest fakt, że inne uznane na świecie grupy przed uwieńczoną powodzeniem współpracą z grupą polską nie były w stanie otrzymać struktury trójwymiarowej rekombinowanej cystatyny C określonej przez prof. Grubba.

Profesor Grubb nie tylko badał funkcje cystatyny C, ale także wykazał jej rolę w kilku stanach patofizjologicznych. Badając jej katabolizm i wydalanie przez nerki, stwierdził, że jej stężenie jest najlepszym wyznacznikiem prawidłowego działania nerek. Obecnie analizę poziomu cystatyny C przeprowadza się do monitorowania funkcji nerek. O zainteresowaniu badaniami prof. Grubba i ich szerokim oddźwięku świadczy fakt, że ponad 3500 opublikowanych prac podkreśla ważność cystatyny C w badaniu funkcji nerek. Rozległa wiedza prof. Grubba o biologii cystatyny C doprowadziła ostatnio do odkrycia nowego stanu patologicznego nerek nazywanego „syndromem skurczonych porów” („Shrunken Pore Syndrome”). Profesor Grubb odegrał także istotną rolę w odkryciu, że występująca w populacji islandzkiej choroba pierwotnie nazywana dziedzicznym krwotokiem mózgowym związana jest z mutacją L68Q cystatyny. W późniejszych badaniach, prowadzonych również z udziałem polskich naukowców z Gdańska i Poznania, ustalił on, w jaki sposób zmutowana cystatyna tworzy oligomery, a następnie fibryle amyloidowe, który to mechanizm stanowi podstawę tej choroby, obecnie nazywanej mózgową angiopatią amyloidową. Używając pochodnych peptydowych, wykazali oni, jak zahamować można proces oligomeryzacji. Te obserwacje mogą być ważne nie tylko dla badań agregacji amyloidowych w wypadku amyloidowej angiopatii mózgowej, ale także dla badań nad chorobami Alzheimera i Parkinsona.

Podsumowanie

Profesor Grubb może poszczycić się wybitnym życiorysem naukowym i jest z pewnością naukowcem znajdującym się w międzynarodowej czołówce. Potrafił połączyć medycynę kliniczną z doskonałą wiedzą z zakresu chemii i biochemii, co pozwoliło mu wnieść istotny wkład w podstawową wiedzę naukową dotyczącą biologii cystatyny C, a także jej udziału w funkcjonowaniu nerek i tworzeniu amyloidów w chorobach takich jak mózgową angiopatia amyloidowa. W tych osiągnięciach polscy naukowcy z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego odgrywali kluczową rolę. Współpraca prof. Andersa Grubba i naukowców z Lund z polskimi badaczami z uniwersytetów w Gdańsku i Poznaniu zaowocowała licznymi odkryciami i obserwacjami opisanymi w 35 publikacjach od 1990 roku wydawanych w wielu

prestizowych czasopismach naukowych. Współpraca ta w najwyższym stopniu pomogła prof. Grubbowi zostać wiodącym naukowcem w obszarze badań struktury i funkcji cystatyny C, obejmującym zagadnienia od podstawowej chemii po biochemię i funkcję tego białka oraz rolę ludzkiej cystatyny C w stanach patologicznych.

Göteborg, 13 lutego 2018 r.

Ulf H. Lerner, DSS, PhD

profesor-senior

Centrum Badań Kości i Artretyzmu

Akademia Salgherska

Uniwersytet w Göteborgu

Opinion

by Professor Mariusz Jaskólski

**Opinion by Professor Mariusz Jaskólski
about the scientific achievements of Professor
Anders Grubb in connection with the application
for granting him the title of doctor honoris causa
of the University of Gdańsk**

The request from the High Academic Senate of the University of Gdańsk to prepare a recommendation in the formal proceedings to confer the title of doctor honoris causa upon Professor Anders Grubb is a great honour to me, and writing the review – a most gratifying duty. It is also an easy task, because I am very familiar with both the calibre of his scientific accomplishments and with the prestige and scientific excellence of the Faculty of Chemistry of the University of Gdańsk, whose Scientific Council has initiated these proceedings. My acquaintance with both “sides” of this process stems not only from my proficiency in a common scientific discipline, but is also a reflection of my privileged position as a participant of a collaborative research project initiated many years ago at this Faculty by Professor Zbigniew Grzonka. Condensing my review to just one sentence, I could say that we are presented with a fantastic example showing how a harmonious and friendly collaboration leads to extraordinary discoveries, builds networks of connections between people, and provides satisfaction and self-propelling energy for further exploration, further research, and further discoveries.

Professor Anders Grubb is the son of a medical doctor and is himself an MD as well. However, his second nature, or should I say: his first nature, is a deep passion for chemistry. Amalgamation of these scientific and medical interests has shaped his profile into what can be broadly described as clinical chemistry. For twenty-two years, until his retirement in 2011, Anders Grubb was not only Professor and Chair of Clinical Chemistry and Pharmacology, but also supervised the Ward of Chemical Analyses of the Teaching Hospital in Lund. Before that, he worked in the Wards of Clinical Chemistry and Internal Medicine in the General Hospital in Malmö, which was also supervised by Lund University. At the beginning of his career, he worked for two years as an assistant in the analytical laboratory of a small hospital in Växjö in Sweden. After his retirement, Lund University awarded him the status of Senior Professor in the Department of Clinical Chemistry and Pharmacology, in the Institute of Laboratory Medicine, where he combines scientific research with teaching duties. During over forty years of his academic career, Professor Anders Grubb promoted fifteen PhD degrees and supervised five postdoctoral fellows.

Professor Grubb's affectionate bond with chemistry is visible not only in his professional career and almost pedantic knowledge of this discipline and its history. He is also a collector of chemical specimens and curiosities. He has assembled an impressive collection of samples of nearly all chemical elements from the Periodic Table that exist on Earth. Professor Grubb also has an impressive collection of minerals, something that is very close to the heart of a crystallographer.

Still as a PhD student, Anders Grubb encountered the chemical molecule that was to become the chemical love affair of his entire life. It was human cystatin C, a protein macromolecule, although in the molecular world of biological giants it is rather modest, as its single polypeptide chain is comprised of just 120 amino acid residues. It seems that today, thanks to the work of Anders Grubb and his co-workers, we know practically everything about cystatin C – but in the 1970s, when this protein was discovered, first under the operational code “gamma trace”, that knowledge was about nil. It could be isolated from urine, and this suggested to Anders Grubb that it could be connected with the kidneys, an idea that has led to the use of cystatin C as a biomarker in kidney dysfunction. The diagnostic method developed by Professor Grubb, which relies on the measurement of cystatin C level in blood plasma, is the simplest and yet the most accurate test for glomerular filtration abnormalities in nephrology. The link between cystatin C and urine allowed him to produce the first large batch of this protein for scientific research. A great merit and contribution to science has been paid in this regard by a huge battalion of Swedish soldiers, who donated hectolitres of this precious fluid to scientific research.

The first scientific triumph was the determination by chemical methods of the amino acid sequence of human cystatin C. Today, it would be a trivial and routine task, but in the early days of cystatin research it was a gigantic accomplishment. It revealed immediately that the sequence of cystatin C was not similar to any other known protein sequence, which added to the attractiveness of cystatin C as a scientific object. A clue leading to the elucidation of the biological function of cystatin C was provided by a serendipitous discovery in hen egg white of a protein with similar sequence and with the ability to inhibit the enzymatic action of papain, which is an aggressive cysteine protease (i.e., a digestive enzyme) from papaya juice. Professor Anders Grubb and his team soon demonstrated that cystatin C is also an inhibitor of papain. Thanks to those careful studies, we know today that cystatin C is a nearly perfect inhibitor of papain, and that its binding by this enzyme is exceptionally strong, among the strongest known in biochemistry. Cystatin C is also an inhibitor of many other cysteine proteases, including human enzymes. It can be found in all body fluids, e.g., in tears or in the cerebrospinal fluid where

it acts to protect the central nervous system from bacterial infections, which frequently start with launching by the pathogen of an attack with a host of aggressive proteases, including cysteine proteases.

We have to realize at this point that while the sequence of cystatin C was already known in the mid-1980s, its three dimensional structure was a complete mystery. Because of that, it was not possible to apply the “lock-and-key” concept of Fisher to explain the perfect match between cystatin C and papain. Professor Grubb made, however, a puzzling observation that without the first 11 residues, the protein is no longer a papain inhibitor. It could be assumed, therefore, that this undecapeptide – of known sequence – is a key inhibitory element. Professor Anders Grubb had a brilliant idea that perhaps just this undecapeptide itself could act as an inhibitor, and in a longer perspective – could become a molecular template for designing drugs that would inactivate aggressive pathogenic proteases.

It is at this moment that we see the first point of contact between Lund and Gdańsk. Looking for collaborations with expertise in peptide synthesis, Professor Grubb turned to Professor Grzonka with a proposal to synthesize peptides derived from the *N*-terminal sequence of human cystatin C. He could not have made a better choice. From that moment on, an extremely fruitful and gratifying collaboration has started, which has lasted for more than three decades and produced a great wealth of fantastic results, including the synthesis, as well as biochemical and biophysical characterization, of a long list of peptides and peptidomimetics, some with unusual properties, including preparations with valuable medical and pharmacological properties. What is equally or even more important, these scientific ties have also resulted in the establishment of a series of regular meetings, which – with time – in addition to the two main groups, from Lund and Gdańsk, also attracted other collaborators. I had extremely good luck, perhaps the most fortunate turn of events in my entire scientific career, to be invited to this elite club with an offer to contribute to crystallographic characterization of cystatin C and its inhibitory peptides. I still vividly remember my first visit and talks during a Polish–Swedish Seminar held in Professor Grzonka’s office.

The story in the mid-1990s became even more captivating because still back in the 1980s cystatin C had been detected in the amyloid deposits in the brains of Icelandic patients dying of a mysterious disease known as haemorrhagic cerebral angiopathy. Professor Grubb’s team found out that those patients had a genetically changed cystatin C, in which leucine 68 is replaced by glutamine, so that the mutated protein easily undergoes amyloidogenic aggregation. Later he demonstrated that under suitable conditions also normal cystatin C can be converted into amyloid.

The quest for the structure of cystatin C took several years and was crowned with a stunning surprise: the molecules of cystatin C formed inter-laced dimers with 3D swapping of their structural domains. The phenomenon of 3D domain swapping, known thus far as a mere scientific curiosity, has suddenly shifted, as has cystatin C, to the focus of vigorous search for the molecular mechanisms of amyloidogenesis. In particular, a series of excellent experiments by Professor Grubb and his co-workers established 3D domain swapping as the mechanism of cystatin C aggregation in the Icelandic variant of amyloid angiopathy. The dimer formation of cystatin C undergoes with the engagement of the domains that are critical as papain binding epitopes, abrogating the inhibitory properties of cystatin C, in accord with much earlier predictions made by Anders Grubb.

The discovery of the aggregation mechanism of cystatin C immediately excited the question “could it be prevented or stopped?” I clearly remember another brainstorming meeting in Professor Grzonka’s office with the participation of Professor Grubb, when the idea was forged to prevent the 3D domain swapping of cystatin C by cementing the unswapped (monomeric) structure with artificial extra disulphide bridges. A series of ingenious experiments carried out in Professor Grubb’s laboratory fully confirmed the theoretical predictions, giving scientists a powerful tool to control the aggregation of cystatin C by red-ox conditions. In the course of these experiments, the Lund team discovered the now-famous “cystatin donuts”, i.e., cyclic oligomers of cystatin C formed via a system of circular domain swapping events.

As a medical doctor, however, Professor Anders Grubb has been always vitally interested in the practical aspects of prevention of cystatin C aggregation, which could lead to effective therapy of HCCAA (Hereditary Cystatin C Amyloid Angiopathy) on Iceland. He marked a remarkable success also in this area, by demonstrating that cystatin C aggregation can be prevented by neutralizing it with an antibody or by enzyme docking. These results evoked a very strong interest and hopes in both the medical and patient communities, as promising harbingers of new diagnostic methods and therapies not only for the sufferers of HCCAA in Iceland, but in a much wider context, applicable to many conformational disorders and amyloidoses, including Creutzfeldt-Jakob disease, Alzheimer’s disease, or Parkinson’s disease.

Throughout his entire beautiful scientific career, Professor Anders Grubb has remained true in his loyalty to his first fascination: the marriage of chemistry and medicine, and has focused it, as in a magnifying glass, on this extraordinary molecule – cystatin C, producing a constant flow of important discoveries that have led to significant progress in biochemistry, medicine, and pharmacology. His results were presented in 350 scientific publications, which have been cited over 19,000 times, setting his Hirsch index at an unmatched

level of $h=71$. Among those publications is an article about estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C levels with over 1,000 citations. Among his scientific works there are 35 articles published jointly with researchers from Poland, mostly from the University of Gdańsk. Professor Anders Grubb is the laureate of a number of prestigious scientific awards. One of them is very exceptional: the Icelandic Order of the Falcon, bestowed on Professor Grubb by the President of Iceland in recognition of his scientific collaboration with this country and for his contribution to the understanding, diagnosis, and therapy of the tragic and lethal disease afflicting Icelandic families.

As a result of the noble motion by the Council of the Faculty of Chemistry that is being reviewed in this opinion, Professor Anders Grubb is the Candidate for another prestigious distinction, the title of doctor honoris causa awarded by the Academic Senate of the University of Gdańsk. This doctorate is a magnificent crowning of a long stretch of years of extremely fruitful collaboration and of the Candidate's contribution to the promotion of science and young scientific cadre at the University of Gdańsk. Foremost, however, it is an award punctuating the magnificent scholarly accomplishments of Professor Anders Grubb as well as his lasting contribution to chemistry and medicine. The honorary doctorate of the University of Gdańsk bestowed on Professor Anders Grubb is a prominent example of this wonderful situation of mutual distinction: an award conferred upon a laureate at the same time nobilitates the granting institution, which proudly inscribes another great name into the register of its doctors: medical doctor and professor, doctor honoris causa of the University of Gdańsk, Anders Grubb.

As the conclusion of my remarks, I firmly ascertain that my opinion in the matter of this review is unconditionally, unequivocally, and enthusiastically positive.

Poznań, 12 February 2018
Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski
Department of Crystallography
Adam Mickiewicz University in Poznań

Opinia

prof. Mariusza Jaskólskiego

Opinia prof. Mariusza Jaskólskiego o dorobku naukowym prof. Andersa Grubba w związku z wnioskiem o nadanie mu tytułu doktora honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego

Przygotowanie recenzji w przewodzie o nadanie doktoratu honorowego prof. Andersowi Grubbowi jest dla mnie zaszczytem i niezwykle miłym obowiązkiem, znam bowiem doskonale jego dorobek i kaliber naukowy – ale i rangę i prestiż Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, którego Rada wszczęła ten przewód. Moja znajomość obu „stron” wynika nie tylko z rozoznania w bliskiej mi dziedzinie naukowej, ale też z przywileju uczestnictwa w badaniach naukowych i współpracy zainicjowanej na tym Wydziale przed wielu laty przez prof. Zbigniewa Grzonkę. Ujmując skrótowo treść mojej recenzji, mógłbym powiedzieć, że mamy przed sobą fantastyczny przykład tego, jak zgodna współpraca i harmonijne współdziałanie prowadzą do niezwykle odkryć naukowych, budują więzi między ludźmi, dostarczają satysfakcji i pełnią funkcję samonapędzającego się motoru dla dalszych badań, dalszych poszukiwań, dalszych osiągnięć.

Profesor Anders Grubb pochodzi z rodziny lekarskiej i sam jest lekarzem. Jednak jego drugą, a może raczej należałoby powiedzieć – pierwszą pasją jest chemia. Z połączenia tych dwóch zainteresowań ukształtował się jego profil naukowy i medyczny obejmujący szeroko pojętą chemię kliniczną. Przez dwadzieścia dwa lata, do czasu przejścia na emeryturę w 2011 roku, był nie tylko profesorem i kierownikiem Katedry Chemii Klinicznej i Farmakologii, ale też szefem ogromnego Oddziału Chemii Klinicznej i Analiz Chemicznych Akademickiego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu w Lund. Przedtem pracował na Oddziale Chemii Klinicznej, a przez pewien czas także na Oddziale Chorób Wewnętrznych Szpitala w Malmö, podlegającego również Uniwersytetowi w Lund. Na początku swojej kariery medycznej pracował przez dwa lata jako asystent w laboratorium analitycznym niewielkiego szpitala w Växjö w Szwecji. Po jego przejściu na emeryturę Uniwersytet w Lund nadał mu status profesora-seniora na Wydziale Chemii Klinicznej i Farmakologii w Instytucie Medycyny Laboratoryjnej, gdzie nadal prowadzi badania oraz działalność dydaktyczną. Warto podkreślić, że przez ponad czterdzieści lat działalności mentorskiej prof. Anders Grubb wypromował piętnastu doktorów oraz opiekował się pięcioma stażystami po doktoracie.

Jako ciekawostkę można dodać, że jego zamiłowanie do chemii wyraża się nie tylko w pracy naukowej i niezwykle dokładnej znajomości historii tej dyscypliny, ale także w gromadzeniu zbiorów okazów chemicznych. Profesor

Grubb posiada unikatową kolekcję fizycznych próbek niemal wszystkich pierwiastków chemicznych układu okresowego występujących na Ziemi, a także imponującą kolekcję minerałów, co jest szczególnie bliskie sercu krystalografa.

Jeszcze jako doktorant Anders Grubb zetknął się z molekułą chemiczną, która miała się stać jego życiową pasją – była to makromolekuła białka, która w molekularnym świecie biologicznych gigantów nie należała jednak do olbrzymów. Chodzi o jednołańcuchową ludzką cystatynę C, której pojedynczy łańcuch polipeptydowy składa się ze 120 reszt aminokwasowych. Dziś wiemy o cystatynie C chyba wszystko – głównie za sprawą Andersa Grubba i jego współpracowników – lecz w latach siedemdziesiątych, gdy została odkryta, początkowo pod roboczą nazwą *gamma trace*, nie wiadano o niej prawie nic. Można ją było wyodrębnić z moczu, co szybko naprowadziło prof. Andersa Grubba na jej związek z nerkami i zaowocowało później zastosowaniem przez niego cystatyny C jako biomarkera w diagnozowaniu funkcji nerek. Opracowana przez niego metoda oznaczania poziomu cystatyny C w osoczu krwi jest najdokładniejszym, a przy tym bardzo prostym testem wykrywającym zaburzenia przesączania kłębuszkowego. Związek cystatyny C z nefrologią i z moczem pozwolił prof. Grubbowi pozyskać pierwszą dużą partię tego białka do badań chemicznych. Wielkie zasługi dla nauki miał w tym zakresie batalion wojska szwedzkiego, od którego pozyskano dziesiątki litrów tego płynu.

Pierwszy tryumf naukowy wiązał się z wyznaczeniem metodami chemicznymi sekwencji aminokwasowej cystatyny C. Dziś byłoby to zadanie trywialne, niemal niewarte wzmianki, lecz wówczas było to gigantyczne osiągnięcie. Pokazało ono natychmiast, że sekwencja aminokwasowa cystatyny C nie przypomina żadnej znanej sekwencji białkowej, co uczyniło z cystatyny niezwykle atrakcyjny przedmiot badań naukowych. Na trop prowadzący do funkcji cystatyny doprowadził badaczy przypadek – odkrycie w białku jaja kurzego proteiny o podobnej sekwencji, która miała zdolność do blokowania funkcji enzymatycznej papainy, agresywnej proteazy cysteinowej izolowanej z mleczka papai. Anders Grubb i jego zespół wykazali, że również cystatyna C jest inhibitorem papainy. Dzięki ich skrupulatnym pomiarom wiemy, że cystatyna C wiedzie prym wśród inhibitorów papainy, a jej wiązanie z tym enzymem należy do najsilniejszych znanych w chemii. Cystatyna C jest również inhibitorem wielu innych proteaz cysteinowych, w tym enzymów człowieka. Znajdujemy ją we wszystkich płynach ustrojowych, na przykład łzach czy płynie mózgowo-rdzeniowym, gdzie pełni rolę ochronną dla centralnego układu nerwowego na wypadek infekcji bakteryjnej, która często rozpoczyna się od ataku z użyciem proteaz cysteinowych.

Musimy sobie uświadomić, że w tym czasie, czyli około połowy lat osiemdziesiątych, znano już co prawda sekwencję cystatyny C, lecz jej

struktura przestrzenna była całkowitą tajemnicą, nie można więc było zastosować teorii „zamka i klucza” Fischera, aby wyjaśnić doskonałe dopasowanie cystatyny i papainy. Profesor Grubb poczynił jednak zaskakującą obserwację – otóż pozbawione jedenastu pierwszych reszt aminokwasowych białko to przestaje inhibować papainę. Można było zatem domniemywać, że ważnym elementem wiążącym enzym jest właśnie ten undekapeptyd – o znanej sekwencji. Anders Grubb wpadł na genialny pomysł, że sam ów peptyd mógłby okazać się inhibitorem, a w dalszej perspektywie lekiem blokującym agresywne proteazy.

I tak dochodzimy do pierwszego kontaktu Lund i Gdańska. To właśnie do prof. Zbigniewa Grzonki zwrócił się Anders Grubb z prośbą o syntezę peptydów o sekwencji N-końca cystatyny C. Nie mógł lepiej trafić. Od tamtej chwili rozpoczęła się trwająca już ponad trzy dekady współpraca naukowa, która przyniosła owoce w postaci wielu peptydów o niezwykłych właściwościach (w tym cennych właściwościach medycznych i farmakologicznych), pogłębionych badań biochemicznych i biofizycznych oraz, co równie ważne, regularnych seminariów naukowych pomiędzy obiema grupami, z czasem poszerzonych o kolejnych współpracowników. W gronie tym znalazła się również moja grupa badawcza w Poznaniu, co poczytuję sobie za jedną z najbardziej szczęśliwych okoliczności w mojej karierze naukowej. Pamiętam moją pierwszą wizytę na Seminarium Polsko-Szwedzkim w Gdańsku, na które prof. Grzonka zaprosił mnie, proponując zbadanie struktury kryształicznej cystatyny C.

Historia w połowie lat dziewięćdziesiątych była jednak znacznie bardziej intrygująca, gdyż jeszcze w latach osiemdziesiątych wykryto cystatynę C w złogach amyloidowych pobranych z mózgu pacjentów na Islandii umierających na tajemniczą dziedziczną chorobę krwotoczną mózgu. Zespół prof. Grubba wykazał, że pacjenci ci mają genetycznie zmienioną cystatynę C, w której reszta leucyny 68 zastąpiona jest glutaminą, a tak zmutowane białko bardzo łatwo ulega agregacji amyloidowej. Później Anders Grubb pokazał, że w odpowiednio dobranych warunkach również normalną cystatynę C można przekształcić w amyloid.

Zmagania ze strukturą cystatyny C zajęły kilka lat i uwieńczone zostały ogromną niespodzianką – dimerem powstałym na skutek wymiany domen przestrzennych. Zjawisko to, znane dotąd od kilku lat jako ciekawostka naukowa, znalazło się nagle, wraz z samą cystatyną C, w centrum zainteresowania badaczy, jako mechanizm molekularny amyloidogenezy. W szczególności wyjaśniło ono mechanizm prowadzący do angiopatii amyloidowej rodzin islandzkich. Dimer cystatyny C, angażujący w agregację epitopy wiążące papainę, utracił „przy okazji” właściwości inhibitorowe, dodatkowo potwierdzając trafność wcześniejszych przewidywań Andersa Grubba.

Odkrycie sposobu agregacji ludzkiej cystatyny C natychmiast pociągnęło za sobą pytanie, czy można jej przeciwdziałać. Pamiętam kolejną burzę mózgów w gabinecie prof. Grzonki, gdzie przy udziale prof. Grubba zrodził się pomysł zablokowania wymiany domen przestrzennych poprzez utrwalenie struktury monomeru białka sztucznymi mostkami dwusiarczkowymi. Eksperymenty takie, przeprowadzone w grupie prof. Grubba, całkowicie potwierdziły nasze przypuszczenia oraz dały badaczom do ręki doskonałe narzędzie do kontroli procesu agregacji cystatyny C warunkami red-oks. W trakcie tych prac odkryto w Lund słynne „obwarzanki cystatynowe”, czyli cykliczne oligomery tego białka uformowane za pośrednictwem wymiany domen przestrzennych.

Jako lekarza, prof. Grubba interesowały jednak bardziej praktyczne sposoby zapobiegania agregacji cystatyny C, które mogłyby być np. wykorzystywane w terapii HCCAA (Hereditary Cystatin C Amyloid Angiopathy) na Islandii. I na tym polu odniósł on duży sukces, wykazując, że można zapobiec agregacji cystatyny C przez wiązanie jej z przeciwciałem lub dokośnięcie w centrum wiążącym enzymu. Wyniki te mają ogromne konsekwencje oraz budzą nadzieje lekarzy i pacjentów, nie tylko w odniesieniu do diagnozowania i terapii angiopatii rodzin islandzkich, ale i wielu chorób konformacyjnych albo amyloidoz, takich jak choroby Creutzfeldta–Jakoba, Alzheimerera czy Parkinsona.

W swojej pięknej i fascynującej karierze naukowej prof. Grubb pozostał wierny swej pierwszej miłości – chemii połączonej z medycyną, i skupił ją jak w soczewce na niezwyklej molekuły – cystatynie C, dokonując wielu ważnych odkryć, które istotnie przyczyniły się do postępu biochemii, medycyny i farmakologii. Wyniki swoich badań przedstawił w prawie 350 publikacjach naukowych, które były cytowane niemal 19 tysięcy razy i ustawiły jego wskaźnik Hirscha na najwyższym poziomie tej skali, w pobliżu $h=70$. Wśród tych publikacji znajduje się praca o wyznaczaniu efektywności przesączania kłębuszkowego na podstawie poziomu cystatyny C w osoczu krwi, ogłoszona zaledwie w 2012 roku, a mająca już prawie tysiąc cytowań literaturowych. Na liście jego publikacji naukowych jest też 35 prac powstałych jako wynik współpracy z badaczami w Polsce, głównie na Uniwersytecie Gdańskim. Profesor Anders Grubb jest laureatem kilku prestiżowych nagród naukowych. Wśród nich jedna jest wyjątkowa: Order Sokoła Islandzkiego przyznany przez prezydenta Islandii za współpracę naukową z tym krajem oraz za wkład w zrozumienie, diagnozowanie i leczenie tragicznej choroby dotykającej rodzin islandzkich.

Dzięki inicjatywie Rady Wydziału Chemii prof. Anders Grubb jest kandydatem do kolejnego niezwyklego wyróżnienia – doktoratu honorowego nadawanego przez Senat Uniwersytetu Gdańskiego na wniosek Rady. Doktorat ten

stanowi wspaniałe uwieńczenie wielu lat współpracy z kandydatem i jego wkładu w promowanie nauki i młodych kadr naukowych na Uniwersytecie Gdańskim. Przede wszystkim jednak jest wyróżnieniem ogromnego dorobku naukowego prof. Andersa Grubba oraz jego trwałego wkładu w rozwój chemii i medycyny. Doktorat honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego dla prof. Andersa Grubba to przykład tej niezwykle pięknej sytuacji, gdy zaszczytnym tytułem wyróżniany jest dostoyny kandydat, a jednocześnie sama uczelnia z dumą powiększa krąg swoich wybitnych doktorów honorowych, dopisując do ich grona jeszcze jedno wielkie nazwisko: lekarz i profesor, doktor honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego – Anders Grubb.

Z całą mocą podkreślam zatem, że moja opinia w recenzowanej sprawie jest jednoznacznie i entuzjastycznie pozytywna.

Poznań, 12 lutego 2018 r.

Prof. dr hab. Mariusz Jaskólski

Zakład Krystalografii

Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu

Opinion

by Professor Jerzy Ciarkowski

**Opinion by Professor Jerzy Ciarkowski
about the scientific achievements
of Professor Anders Grubb in connection
with the application for granting
him the title of doctor honoris causa
of the University of Gdańsk**

Professor Anders Grubb, born on 21 October 1944, since 2011 Senior Professor of Lund University, well recognized in the world of science, has been studying, among other things, the structure-function relationships of proteins, in particular of human cystatin C, amyloidosis and ways of preventing it, and the use of proteins, including cystatin C, in medical diagnostics, in particular of kidney diseases. In 1968 he completed medical studies at Lund University, where in 1974 he got his PhD in clinical chemistry. In 1975 and 1980 he conducted his postdoctoral training in the New York University Medical Center and the Ramón y Cajal Institute, University of Madrid, respectively. His scientific career is bound with Malmö General Hospital and with the University Hospital of Lund University, beginning from trainee and junior scientist (*underläkare, klinisk amanuens*, 1968–1978) to Full Professor and senior physician (1989–2011).

Since 1969 till today, covering nearly a half-century of his scientific career, Professor Anders Grubb has published about 340 scientific papers in international journals as prestigious as Clin. Chem. (7), J. Biol. Chem. (19), Proc. Natl. Acad. Sci. USA (4), Clin. Chem. Lab. Med. (6), PLoS One (2), Nature (1), Nature Struct. Biol. (1), Nature Genetics (1), Am. J. Kidney Dis. (2), Kidney Internat. (4), J. Immunol. (6), Lancet (1), New Engl. J. Med. (1), Biochemistry (1), J. Clin. Invest. (1), Anal. Biochem. (3), Neuron (1), and others, releasing on average seven papers *per annum* in this whole time period. The works with his contribution are opinion-making, which is warranted by a high citation index (excluding auto-citations) equal to 14,514 and an h-index of 67. Professor Grubb is also an author of ten patents and has been frequently invited by selected periodicals listed above to be a referee of submitted manuscripts. He has been a laureate of many domestic and international awards and distinctions.

Professor Anders Grubb has promoted a number of PhDs and hosted several postdocs, including, in the years 2003–2004, Doctor Ewa Wiczerzak from the Faculty of Chemistry at the University of Gdańsk. Besides her, numerous members of the nowadays Department of Biomedical Chemistry

at the same Faculty have paid short working visits in Professor Grubb's lab, including Professor Franciszek Kasprzykowski, the late Professor Leszek Łankiewicz, Professor Aneta Szymańska, Doctor Paulina Czaplewska, Doctor Maria Dzierżyńska, retired Doctors Regina Kasprzykowska and Krystyna Stachowiak, and others. Thus we approach an important point, which is that all these visits have contributed to the scientific collaboration conceived at the end of the 1980s by Professor Zbigniew Grzonka and involving selected peptide chemists at the Faculty of Chemistry at the University of Gdańsk on the one part and Professor Grubb's group in Lund on the other; this collaboration pending despite Professor Grzonka's retirement nearly a decade ago.

These scientific links, soon extended by a group of structural biophysicists from the Institute of Bioorganic Chemistry at the Polish Academy of Sciences in Poznań, headed by Professor Mariusz Jaskólski, enriched this collaboration by structural studies of the human cystatin C and aggregation of its mutants, in relation with their bioactivities such as inhibition of cysteine proteases and amyloidosis, respectively. This, in turn, stimulated scientific careers of all parties, including a number of participants from the University of Gdańsk. Careers related to this collaboration include, among others, two full professors (above-mentioned Kasprzykowski and Łankiewicz), four associate professors (Aneta Szymańska, Sylwia Rodziewicz-Motowidło, currently Head of the Department of Biomedical Chemistry, Elżbieta Jankowska, and Aleksandra Kołodziejczyk, who, having acquired professorship in organic chemistry in 2011, has been active in the cystatin studies), and numerous PhDs, among them Doctor Marta Orlikowska, who dedicated herself to crystallochemistry. Besides resulting in 34 collective Polish–Swedish papers in scientific periodicals renowned worldwide, this collaboration instilled in several chemists from the University of Gdańsk ideas for new projects whose effects also include numerous papers. Important elements of this partnership are bilateral conferences and workshops organized since well over a decade alternately in Poland and Sweden and the Polish–Swedish project EUREKA, recently initiated by Professor Grubb and aimed at commercializing the research results regarding a prospective drug Cystapep-1 that manifests, among other things, antiviral activities. To this aim, a small Swedish–Polish company MAGISK was established to market and distribute a specimen containing Cystapep-1. The last inestimable “added value” of the Polish–Swedish partnership may turn out to be the influence of the Scandinavian lifestyle on the personalities of the Polish partners. Termed in Swedish *lagom*, literally „accurate(ly)”, this style – in short – consists in maintaining both internal and external harmony, with glorification of modesty and simplicity in the background.

The profile drawn above leaves no doubts that Professor Anders Grubb is an acclaimed scientist well recognized worldwide. He collaborates with fellow

scientists in Europe and America, yet his links with the peptide chemists of the Faculty of Chemistry at the University of Gdańsk are, I think, very special, given the common works in prestigious specialist periodicals worldwide, the common conferences and – last but not least – the stimulating influence on the scientific development of the Faculty's staff. In my opinion, Professor Anders Grubb surely deserves an honorary doctorate of the University of Gdańsk. Simultaneously, awarding him this title would have paid at least in part the debt of gratitude due to him on the University's part. I heartily support the idea of the Faculty of Chemistry awarding Professor Anders Grubb with the title of doctor honoris causa of the University of Gdańsk.

Gdańsk, 27 April 2018

Prof. dr hab. Jerzy Ciarkowski

Faculty of Chemistry

University of Gdańsk

Opinia

prof. Jerzego Ciarkowskiego

Opinia prof. Jerzego Ciarkowskiego o dorobku naukowym prof. Andersa Grubba w związku z wnioskiem o nadanie mu tytułu doktora honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego

Profesor Anders Grubb, urodzony 21 października 1944 roku, od 2011 roku profesor-senior Uniwersytetu w Lund, jest cenionym w świecie naukowcem studiującym między innymi zależności pomiędzy strukturą a funkcją białek, w szczególności ludzkiej cystatyny C, amyloidozę i jej zapobieganie oraz zastosowania białek, w tym cystatyny C, w diagnostyce medycznej, w szczególności chorób nerek. W roku 1968 ukończył studia medyczne na Uniwersytecie w Lund, gdzie następnie w 1974 roku uzyskał doktorat z chemii klinicznej. W latach 1975 i 1980 odbył staże podoktorskie odpowiednio w New York University Medical Center i Ramón y Cajal Institute Uniwersytetu w Madrycie. Jego kariera naukowa związana jest z Malmö General Hospital i University Hospital, Lund University, począwszy od stanowisk stażysty i asystenta (*underläkare, klinisk amanuens*, 1968–1978) do profesora zwyczajnego i lekarza specjalisty (1989–2011).

W czasie od 1969 roku do dziś, a więc obejmującym niemal półwiecze kariery naukowej, prof. Anders Grubb został współautorem około 340 publikacji w międzynarodowych periodykach naukowych tak prestiżowych jak Clin. Chem. (7), J. Biol. Chem. (19), Proc. Natl. Acad. Sci. USA (4), Clin. Chem. Lab. Med. (6), PLoS One (2), Nature (1), Nature Struct. Biol. (1), Nature Genetics (1), Am. J. Kidney Dis. (2), Kidney Internat. (4), J. Immunol. (6), Lancet (1), New Engl. J. Med. (1), Biochemistry (1), J. Clin. Invest. (1), Anal. Biochem. (3) oraz Neuron (1), publikując średnio siedem prac rocznie w całym tym okresie. Prace jego współautorstwa są opiniotwórcze, o czym świadczy bardzo wysoka wartość indeksu cytowań (bez autocytowań), wynosząca 14 514, oraz wskaźnik Hirscha równy 67. Ma on na koncie także dziesięć patentów, a uznane periodyki często proszą go o zrecenzowanie nadsyłanych manuskryptów. Jest również laureatem licznych nagród i wyróżnień naukowych, zarówno krajowych, jak i międzynarodowych.

Profesor Anders Grubb wypromował kilkunastu doktorów i był opiekunem kilku stażystów po doktoratach, w tym, w latach 2003–2004, dr Ewy Wieczerek z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Prócz wymienionej, liczni przedstawiciele obecnej Katedry Chemii Biomedycznej Wydziału Chemii również składali krótkie robocze wizyty w pracowni prof. Grubba – między innymi prof. Franciszek Kasprzykowski, śp. prof. Leszek Łankiewicz, dr hab. Aneta Szymańska, dr Paulina Czaplewska, dr Maria Dzierżyńska, dziś

już emerytowane dr Regina Kasprzykowska i dr Krystyna Stachowiak oraz inni. I tu dochodzimy do istotnego punktu, opisane wizyty przyczyniły się bowiem do nawiązania pod koniec lat osiemdziesiątych przez prof. Zbigniewa Grzonkę współpracy naukowej między grupą chemików peptydowych Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego a zespołem naukowym prof. Grubba w Lund – współpracy wciąż żywej, mimo przejścia kilka lat temu prof. Grzonki na emeryturę.

Owe więzi naukowe, które wkrótce objęły także kierowany przez prof. Mariusza Jaskólskiego zespół biofizyków strukturalnych z Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, wzbogaciły tematykę badawczą gdańskich chemików o badania nad strukturą ludzkiej cystatyny C i agregacją jej mutantów w powiązaniu z aktywnościami biologicznymi takimi jak, odpowiednio, inhibicja proteaz cysteinowych z jednej i amyloidoza z drugiej strony. To z kolei stymulowało rozwój gdańskiej kadry naukowej, w której wykształciło się kilkunastu chemików peptydowych. Z zagadnieniami tymi wiązało swoje kariery naukowe między innymi dwóch profesorów tytularnych (wspomniani Kasprzykowski i Łankiewicz), czwórka doktorów habilitowanych (Aneta Szymańska, aktualna szefowa Katedry Chemii Biomedycznej Sylwia Rodziejewicz-Motowidło, Elżbieta Jankowska i Aleksandra Kołodziejczyk – po habilitacji z syntezy organicznej w 2011 roku aktywnie zajmująca się tematyką cystatynową) i liczni doktorzy, wśród nich dr Marta Orlikowska, krystalohemiczka z głębi serca. Prócz przyniesienia 34 wspólnych polsko-szwedzkich publikacji w prestiżowych periodykach o światowym zasięgu, współpraca ta zaszczerpiła w kilku gdańskich chemikach pomysły samodzielnych projektów, czego efektem są również liczne publikacje. Istotnym elementem opisanej współpracy są także organizowane od kilkunastu lat naprzemiennie co dwa lata w Gdańsku lub Poznaniu oraz w Lund lub Umeå polsko-szwedzkie konferencje robocze. Kolejnym aspektem owego partnerstwa jest zainicjowany niedawno przez prof. Grubba polsko-szwedzki projekt EUREKA dążący do komercjalizacji wyników badań nad biologicznie aktywnym związkiem Cystapep-1 wykazującym między innymi aktywność antywirusową. W tym celu założono szwedzko-polską firmę partnerską MAGISK, która zajmie się marketingiem i sprzedażą preparatu zawierającego Cystapep. Ostatnią, niewymierną „wartością dodaną” polsko-szwedzkiej współpracy może okazać się wpływ skandynawskiego stylu życia na osobowości polskich partnerów. Określany szwedzkim słowem *lagom* (dosłownie „w sam raz”), styl ten – mówiąc najkrócej – sprowadza się do zachowania harmonii wewnętrznej i z otoczeniem, z apologią umiarkowania i prostoty w tle.

Nie ulega wątpliwości, że prof. Anders Grubb jest wybitnym uczonym o uznanym autorytecie międzynarodowym. Współpracuje z naukowcami w Europie i Ameryce, jego więzi z chemikami peptydowymi Wydziału Chemii

Uniwersytetu Gdańskiego są jednak moim zdaniem wyjątkowe, czego dowodzą zarówno ich wspólne prace w prestiżowych periodykach naukowych o zasięgu światowym, jak i wspomniane konferencje specjalistyczne, a wreszcie niemniej ważny pozytywny wpływ na rozwój kadry naukowej Wydziału Chemii. W moim przekonaniu prof. Anders Grubb w pełni zasługuje na doktorat honorowy Uniwersytetu Gdańskiego. Tytuł ten byłby zarazem częściową spłatą należnego mu długu wdzięczności. Gorąco popieram podjętą przez Wydział Chemii inicjatywę uhonorowania go doktoratem honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego.

Gdańsk, 12 stycznia 2018 r.
Prof. dr hab. Jerzy Ciarkowski
Wydział Chemii
Uniwersytet Gdański

Anders Grubb's narrative of Polish–Swedish cystatin research 1988–2018

I am deeply honoured to have been elected doctoris honoris causa at the University of Gdańsk and I will now tell a little about myself, the science I have been involved in, and about the marvellous cooperation I and my co-workers have had with great Polish scientists mainly associated with the University of Gdańsk.

I became very interested in chemistry when I was about ten years old and my teacher in chemistry in his first lecture showed an experiment on how to make fire under water. It involved yellow phosphorus and potassium chlorate and would be completely impossible to do today, when it is, unfortunately, more important to make boys and girls cautious rather than curious. Then I understood that in chemistry anything is possible and it is still relevant to ask ourselves if world development is driven by cautious or curious people. In my continuing studies, I realized with fascination that human chemistry is the most complex one and that it produces both health, disease, and consciousness. Equally fascinating was the insight that all of this was guided by the properties of the elements, which in their turn were inherent in the Big Bang event. Since the Big Bang was soundless, it might be more adequate to name it the Big Brainwave or Mind Wave.

So, when in the early 1970s I arrived at the intersection of chemistry and human health and disease, called Clinical Chemistry, I was eager to start exploring the world of human chemistry. My first encounter with a molecule of unknown structure and function resulted in myself being imprinted by it, just like some birds, according to Lorenz, get imprinted by the first creature they see when they jump out of their eggs.

This was the protein cystatin C, which in these days had just a trivial name, since virtually nothing was known about its structure or function or possible use in medicine. So, we isolated it and sequenced its single polypeptide chain, which in these days was not easy. We then hoped that we would get help from the developing computer science as this allowed comparison of all amino acid sequences of all proteins with known and unknown functions. For if a sequence homology between cystatin C and a protein with known function would be found, it would strongly indicate that cystatin C had a similar function. But the cystatin C sequence did not resemble any other known sequence. This was bad, because it meant that we had no clue about its function, but also good, because it meant that cystatin C was the first member of a new and exciting superfamily of proteins.

The possibility of comparing a new amino acid sequence with all previously known amino acid sequences to gain information reflects the important fact that modern chemistry represents a universal language understood by chemists from all countries in the world. The many languages of Earth use a multitude of different letters, but the letters of chemistry are just the designations of the elements. These designations were suggested by the Swedish physician and chemist Jöns Jacob Berzelius in the beginning of the 19th century and meant that all elements should be designated by the first, or the two first, letters of their Latin or Greek names. So, since about 200 years and for all eternity all chemists in all countries will know exactly what C, N, O, H, and H₂O mean, but only a fraction of all people will know what, for instance, is the meaning of “navcaq”.

The universal language of chemistry allowed the discovery of the function of cystatin C by connecting it to tenderizing meat. In California meat is often tenderized by injection of papain into the animals at slaughter, and the cattle breeders were annoyed that so much expensive papain was required. They therefore supplied grant money to nearby universities with the hope that the researchers would be able to explain the vast amounts of papain required for tenderizing meat. Some researchers coupled papain to an insoluble matrix in a column and poured different biological fluids through the column and investigated if anything would stick to the papain. When egg white was poured through the column, a protein bound to the papain and could be isolated and sequenced. Its sequence was highly homologous to that previously determined for cystatin C and we could immediately establish that cystatin C was an inhibitor of papain. It is now known that cystatin C is the most important inhibitor of many vital human cysteine proteases, for example cathepsins B, K, L, and H.

One interesting aspect of proteins is that their function is often executed by a very small part of them called the active site or, for protease inhibitors, the inhibitory site. This means that if you can find the site, it might be possible to produce low-molecular-weight substances with the same, or similar, biological effects as the big protein. These low-molecular-weight substances can often be used as medicines. However, identification of the active or inhibitory site(s) of a protein is most often very difficult and requires knowledge of the three-dimensional structure of the protein. But for cystatin C we made the serendipitous observation that some preparations of cystatin C contained a small fraction of cystatin C in which the eleven *N*-terminal amino acid residues were missing. This variant had lost most of the inhibitory capacity of cystatin C and it was therefore very likely that at least a part of the inhibitory site of cystatin C was constituted by a part, or all, of the *N*-terminal undecapeptide. This observation was done in 1986 and we wanted to test if

peptidyl derivatives structurally based upon this undecapeptide could mimic the properties of cystatin C for example as a cysteine protease inhibitor. We tried to find scientists or chemists in Sweden who would be able to synthesize such peptidyl derivatives, but, despite considerable efforts, we were not able to find any. Finally, we contacted a chemist, Jerzy Trojnar, in the Ferring company in Malmö. He originated from Poland and knew Zbigniew Grzonka and his group at the University of Gdańsk and he told me that if anyone would be able to synthesize the required peptidyl derivatives, it would be Zbigniew and his research group. Jerzy contacted Zbigniew and established the link between him and me. For young people, constantly hugging their mobile phones, it might be difficult to understand how problematic it was to communicate between Poland and Sweden in the 1980s. For every phone call Zbigniew and I were going to have, we had to order it at least four hours in advance so that a suitable censor could be selected to check that Zbigniew and I were not conspiring against the communistic government of Poland. These censors were hardly chemists and must have been bored to death by our chemistry discussions. But their basic assumption was valid; neither Zbigniew nor I appreciated the communistic government very much. Naturally, Zbigniew and his co-workers, among them Franciszek Kasprzykowski and Leszek Łankiewicz, were able to synthesize interesting peptidyl derivatives, mimicking the protease inhibiting effects of cystatin C. As a matter of fact, some of them were, and still are, the best cysteine protease inhibitors available. As often occurs in chemistry and science, some of the peptidyl derivatives showed surprising additional properties and turned out to be efficient antiviral and antibacterial substances. They could even kill bacterial strains resistant to all known antibiotics. The further developments in this field have mainly taken place in Gdańsk with the aim of developing new types of antibacterial and antiviral substances. The first product for medical use has recently been introduced in Gdańsk.

But, although the *N*-terminal part of cystatin C clearly was involved in the inhibitory site of it, a full characterization of the site required knowledge of the three-dimensional structure of cystatin C. We had determined the nucleic acid sequences of the mRNA and gene for cystatin C and were able to construct a system for efficient production of recombinant cystatin C, identical with native cystatin C isolated from human fluids. Our research group did not have the capacity to use crystallography in our protein studies, so we contacted crystallography groups all over the world to try to interest them in the three-dimensional structure of cystatin C. They were all very interested and we sent several grams of recombinant cystatin C to them for these studies. However, although two groups were led by Nobel Prize laureates, nobody could present data on the three-dimensional structure of cystatin C. However,

Zbigniew invited co-workers, experienced in crystallography, from Adam Mickiewicz University in Poznań, among them Mariusz Jaskólski, Robert Janowski, and Maciej Kozak, whose innovative thinking made it possible to determine the three-dimensional structure of crystalline cystatin C to be a domain-swapped dimer. This was a major step in defining the inhibitory site of cystatin C, but also supported a new hypothesis on how native proteins might aggregate and form the detrimental fibrillary deposits of amyloid disorders, like Alzheimer's and Parkinson's diseases. Since cystatin C is normally present as a monomer in human body fluids, the three-dimensional structure of the dimer was not ideal for studies of the inhibitory site of the monomer. But the knowledge of the structure of the dimer allowed us to construct a cystatin C variant which, by introduction of an internal disulphide bond, was stable as a monomer also when it was crystallized. The three-dimensional structure of this cystatin C monomer allowed firm conclusions about not only the inhibitory site of the native monomeric protein, but also about other areas of the molecule of importance for its stability.

The amyloid deposits of the brain in Alzheimer's disease and at old age consist mainly of amyloid β -protein 42, a cleavage product of the bigger amyloid precursor protein (APP), but significant amounts of native cystatin C are co-deposited. This indicates that native cystatin C is prone to aggregate, which agrees with its tendency to dimerize during crystallization. In the 1930s, an Icelandic physician Arni Arnason noted that in some big families up to about 25% of the members died of cerebral haemorrhage before 30 years of age. He called the disease "hereditary brain haemorrhage". Naturally, many of the family members asked him if he could tell them if they had the brain haemorrhage-causing gene. Sadly, he could only tell them that they would have to die for him to be able to determine that. In the last sentence of his thesis *Apoplexie und ihre vererbung* he wrote that the two most important goals for the research on this disease were to find a way to diagnose it and to understand its pathophysiology so that it would be possible to treat it. About 40 years later, Gunnar Gudmundsson noted that it was amyloid deposits which caused the brain haemorrhages in this disorder. But the chemical nature of the deposits could not be determined. In 1983, a small amount of the protein constituting the amyloid deposits could be extracted and a short string of its amino acid sequence determined. This sequence was identical with a part of the sequence for cystatin C, which we previously had determined, and immunohistochemical studies confirmed that the protein, indeed, was cystatin C. Further sequencing of the extracted protein indicated that there was one amino acid difference, L68Q, compared to the one for cystatin C determined earlier. In order to decide whether this represented a disease-causing mutation or just a polymorphism, we produced a simple PCR-based

restriction fragment length polymorphism analysis to identify the two gene variants (alleles). This was easy to do, since we already knew the nucleic acid sequences of the mRNA and gene for cystatin C. The L68Q-mutation identified all the individuals with cerebral haemorrhage in the afflicted families. So, after about 50 years of chemical progress, the first goal pinpointed by Arni Arnason was fulfilled: 1 microliter of blood allows to identify the carriers of the brain haemorrhage-producing gene. This has had a great effect for the clinical handling of these patients. It allows, for example, prenatal diagnosis. But the second goal set up by Arni Arnason, to elucidate the pathophysiology of the disease so that it can be treated, is still not reached.

This second goal is more important than just allowing development of treatment options for the relatively few Icelandic patients carrying the L68Q-mutation, because the aggregation process, generating amyloid fibrils, might be operative also in much more common amyloid disorders, for instance familial amyloid polyneuropathy as well as Alzheimer's and Parkinson's diseases. Knowledge of the three-dimensional structures of monomeric and dimeric cystatin C not only supported the hypothesis of domain swapping as an important general mechanism in amyloid formation, but also allowed identification of important cystatin C oligomers preceding the formation of amyloid fibrils. Further studies using molecular modelling, advanced physico-chemical methods, like atomic force microscopy, small angle neutron scattering, nuclear magnetic resonance diffusometry, production of cystatin C variants with increased or decreased tendency to oligomerize and synthesis of peptidyl derivatives interfering with cystatin C oligomerization, have allowed detailed elucidation of the aggregation process and development of reagents delaying or stopping it. This progress would not have been possible without the knowledge and expertise of Maciej Kozak, Sylwia Rodziewicz-Motowidło, Aneta Szymańska, Robert Kołodziejczyk, and other Polish scientists in Gdańsk and Poznań.

Even if you have a specific plan for your research, for example elucidation of the structure and function of cystatin C, you should always be open to your results being also of interest to other areas of science. For example, when we hypothesised that cystatin C was catabolised by the kidneys by being excreted by glomerular filtration and subsequent degradation in the tubular cells, we studied patients with decreased kidney function (decreased glomerular filtration rate). The results showed a strong inverse correlation between the cystatin C plasma level and the glomerular filtration rate, and did not only support our hypothesis, but also indicated that the plasma, or serum, level of cystatin C is the best marker for kidney function. After the first publication of this in 1979, more than 3,500 studies have been published emphasizing the role of cystatin C in monitoring kidney function. In some of these studies,

Polish scientists, among them Joanna Pollak from Collegium Medicum of the Nicolaus Copernicus University in Bydgoszcz, have played important roles. Knowledge of the structure and large size of cystatin C has recently allowed discovery of a new renal disorder, designated “Shrunken Pore Syndrome”, in which the glomerular pores have lost their capacity to filter big molecules like cystatin C, while retaining their capacity to filter small molecules like creatinine. Shrunken Pore Syndrome has turned out to be a common disorder with a remarkably high mortality. Fortunately, the pathophysiology of the disorder seems to allow treatment.

This longstanding and successful Polish–Swedish cooperation, involving many more Polish scientists than those few mentioned in this account, and reported in more than 35 scientific articles, would probably not have been possible unless Zbigniew Grzonka had initiated regular Polish–Swedish meetings concerning the topics of this discourse. These meetings started in Gdańsk in 1996 and are ongoing with 14 meetings organised so far with the meeting venues alternating between Poland and Sweden.

Anders Grubb

O polsko-szwedzkich badaniach nad cystatyną C w latach 1988–2018

tłumaczenie z angielskiego oryginału – dr hab. Elżbieta Jankowska, prof. UG

Jestem głęboko zaszczycony faktem, iż zostałem wybrany na doktora honoris causa Uniwersytetu Gdańskiego. Opowiem teraz trochę o sobie, o nauce, w którą jestem zaangażowany, i o współpracy, jaką ja i moi współpracownicy mieliśmy okazję podjąć ze wspianymi polskimi naukowcami, związanymi głównie z Uniwersytetem Gdańskim.

Chemią zainteresowałem się, gdy miałem około dziesięciu lat – wtedy to mój nauczyciel chemii na pierwszym wykładzie przeprowadził eksperyment pokazujący, jak rozpaść ogień pod wodą. Do reakcji tej wykorzystał żółty fosfor i chloran potasu. Byłoby to całkowicie niemożliwe do zrobienia dzisiaj, gdy – niestety – ważniejsze jest zaszczepianie w chłopcach i dziewczętach ostrożności niż ciekawości. Zrozumiałem wtedy, że w chemii wszystko jest możliwe i że ważne jest, by wciąż zadawać sobie pytanie, czy rozwój świata dokonuje się dzięki osobom ostrożnym czy ciekawym. W toku moich badań przykładałem sobie z fascynacją, że procesy zachodzące w człowieku to przykład najbardziej złożonej chemii i że odpowiada ona za zdrowie, choroby, a także świadomość. Równie intrygująca była myśl, że wszystko to opiera się na właściwościach pierwiastków, a te z kolei były nieodłącznym elementem Wielkiego Wybuchu – który lepiej byłoby może nazwać Wielką Falą Mózgową lub Umysłową, był bowiem bezgłówny.

Kiedy we wczesnych latach siedemdziesiątych znalazłem się na rozdrożu chemii oraz ludzkiego zdrowia i chorób, czyli w obszarze chemii klinicznej, zapragnąłem zacząć poznawać świat procesów chemicznych zachodzących w człowieku. Moje pierwsze spotkanie z cząsteczką o nieznanym kształcie i funkcji odcisnęło na mnie swoje piętno, tak jak to bywa, zgodnie z teorią Lorenza, w wypadku niektórych ptaków, na których piętno odciska pierwsze stworzenie, które widzą, kiedy wykluwają się ze swoich jaj.

Tą cząsteczką była cystatyna C, która w tamtych czasach nie miała jeszcze własnej nazwy, ponieważ praktycznie nic nie było wiadomo o jej budowie, funkcji ani możliwym zastosowaniu w medycynie. Wyizolowaliśmy ją zatem i zsekwencjonowaliśmy jej pojedynczy łańcuch polipeptydowy, co w tamtych czasach wcale nie było łatwe. Mieliśmy nadzieję, że uzyskamy wsparcie ze strony rozwijającej się informatyki, która umożliwiała porównanie sekwencji aminokwasowych wszystkich białek o znanych i nieznanach funkcjach.

Gdyby udało się znaleźć homologię sekwencyjną między cystatyną C a innym białkiem o znanej funkcji, silnie sugerowałoby to, że cystatyna C może pełnić podobną rolę. Ale sekwencja cystatyny C nie przypominała żadnej innej znanej wówczas sekwencji. Z jednej strony fakt ten był niefortunny, ponieważ nadal nie mieliśmy pojęcia o jej funkcji – z drugiej jednak oznaczało to, że cystatyna C jest pierwszym członkiem nowej, ekscytującej nadrodziny białek.

Możliwość porównania nieznanej sekwencji aminokwasowej ze wszystkimi znanymi już sekwencjami odzwierciedla pewien ważny fakt – mianowicie że nowoczesna chemia posługuje się uniwersalnym językiem, rozumianym przez chemików ze wszystkich krajów świata. Wiele jest języków na Ziemi i używają one wielu różnych liter; literami chemii są natomiast symbole pierwiastków. Symbole te, w postaci pierwszej litery bądź pierwszych dwóch liter łacińskiej lub greckiej nazwy, zostały zaproponowane przez szwedzkiego lekarza i chemika Jönsa Jacoba Berzeliusa na początku XIX wieku. Od około 200 lat i przez całą wieczność wszyscy chemicy we wszystkich krajach będą zatem wiedzieli dokładnie, co oznaczają litery C, N, O, H i H_2O , ale tylko ułamek wszystkich ludzi będzie wiedzieć, co oznacza, na przykład, „navcaq”.

Uniwersalny język chemii pozwolił na odkrycie funkcji cystatyny C dzięki powiązaniu jej z procesem zmiękczenia mięsa. W Kalifornii mięso często zmiękcza się poprzez wstrzyknięcie zwierzętom kosztownej papainy podczas uboju i hodowcy bydlę nie chcieli pogodzić się z faktem, że potrzebowali tak dużych ilości tego enzymu. W związku z tym wyasygnowali środki na granty dla pobliskich uniwersytetów, w nadziei, że naukowcy będą w stanie wyjaśnić, dlaczego zapotrzebowanie na papainę jest tak ogromne. Pewni badacze przyłączyli ją do nierozpuszczalnej matrycy stanowiącej wypełnienie kolumny chromatograficznej, a następnie przepuszczali przez nią różne płyny biologiczne, badając, czy coś się do niej wiąże. Gdy przez kolumnę przepuszczone zostało białko jaja, odkryto, iż przyłączyło się ono do papainy. Gdy białko to wyizolowano i zsekwencjonowano, okazało się, że jego sekwencja jest wysoce homologiczna do wcześniej określonej sekwencji cystatyny C, co pozwoliło natychmiast ustalić, że jest ona inhibitorem papainy. Obecnie wiadomo, że jest to najważniejszy inhibitor wielu istotnych ludzkich proteaz cysteinowych, na przykład katepsyn B, K, L i H.

Interesującą cechą białek jest to, że za pełnione przez nie funkcje odpowiada często bardzo mały fragment nazywany miejscem aktywnym lub, w wypadku inhibitorów proteaz, miejscem inhibitorowym. Po zidentyfikowaniu takiego miejsca możliwe staje się otrzymanie związku małocząsteczkowego o działaniu biologicznym takim samym lub podobnym do działania całego białka. Te niskocząsteczkowe związki często mogą być wykorzystywane jako leki. Identyfikacja miejsca aktywnego lub inhibitorowego jest zwykle bardzo trudna i wymaga znajomości trójwymiarowej struktury białka, w wypadku

cystatyny C dokonaliśmy jednakże nieoczekiwanej obserwacji, że niektóre jej preparaty zawierają pewną ilość białka, w którym brakuje jedenastu *N*-końcowych reszt aminokwasowych. Ten wariant tracił większość zdolności inhibitorowych i dlatego było bardzo prawdopodobne, że przynajmniej część miejsca inhibitorowego cystatyny C zawiera się w *N*-końcowym jedenasto-peptydzie. Obserwacji tej dokonano w 1986 roku. Wówczas to zapragnęliśmy sprawdzić, czy pochodne peptydylowe zaprojektowane w oparciu o ten fragment będą naśladować właściwości cystatyny C na przykład pod względem inhibicyjnego działania wobec proteaz cysteinowych. Próbowaliśmy zatem znaleźć w Szwecji naukowców lub chemików, którzy byłiby w stanie zsyntezować takie pochodne. Mimo znacznych wysiłków nie powiodło nam się. W końcu skontaktowaliśmy się z chemikiem Jerzym Trojnarem z firmy Ferring w Malmö. Pochodził on z Polski i znał Zbigniewa Grzonkę oraz jego grupę z Uniwersytetu Gdańskiego – powiedział mi też, że jeśli ktokolwiek jest w stanie zsyntezować wymagane pochodne peptydylowe, jest to właśnie Zbigniew i jego grupa badawcza. Jerzy skomunikował się ze Zbigniewem i nawiązaliśmy kontakt. Młodym ludziom hołubiącym swoje telefony komórkowe trudno zapewne zrozumieć, jak problematyczna była komunikacja między Polską i Szwecją w latach osiemdziesiątych. Każde połączenie telefoniczne trzeba było zamawiać z co najmniej czterogodzinnym wyprzedzeniem, żeby mógł zostać wybrany odpowiedni cenzor do sprawdzenia, czy Zbigniew i ja nie spiskujemy przeciwko komunistycznemu rządowi Polski. Cenzorzy ci nie byli chemikami i musiały ich śmiertelnie nudzić nasze dyskusje na temat chemii. Ale ich podstawowe założenie było słuszne – ani Zbigniew, ani ja nie ceniłimy zbyt wiele komunistycznego rządu. Oczywiście Zbigniew i jego współpracownicy, w tym Franciszek Kasprzykowski i Leszek Łankiewicz, byli w stanie zsyntezować interesujące nas pochodne peptydylowe naśladowujące działanie inhibitorowe cystatyny C wobec proteaz. Niektóre z tych związków były i nadal są najlepszymi dostępnymi inhibitorami proteaz cysteinowych. A jak się często zdarza w chemii i nauce, niektóre pochodne przejawiały również zaskakujące dodatkowe właściwości i okazały się skutecznymi środkami przeciwwirusowymi i przeciwbakteryjnymi, zabijającymi nawet szczepy bakterii odporne na wszystkie inne znane antybiotyki. Dalszy rozwój w tej dziedzinie ma miejsce głównie w Gdańsku i skupia się na opracowywaniu nowych rodzajów substancji przeciwbakteryjnych i antywirusowych. Pierwszy produkt został niedawno wprowadzony do użytku medycznego w Gdańsku.

Chociaż *N*-końcowa część cystatyny C wyraźnie stanowiła element miejsca inhibitorowego, do pełnej jego charakterystyki potrzebna była jednak znajomość trójwymiarowej struktury cystatyny C. Ustaliśmy sekwencje kwasów nukleinowych mRNA i gen dla cystatyny C i byliśmy w stanie skonstruować system do wydajnej produkcji rekombinowanej cystatyny C, identycznej

z formą natywną, wyizolowaną z ludzkich płynów. Nasza grupa badawcza nie była w stanie wykorzystać krystalografii w badaniach białek, skontaktowaliśmy się więc z grupami krystalograficznymi na całym świecie, by zaciekawić je trójwymiarową strukturą cystatyny C. Wszystkie wykazały nią duże zainteresowanie, wysłaliśmy im więc kilka gramów rekombinowanej cystatyny C do badań. Mimo że dwie grupy prowadzone były przez laureatów nagrody Nobla, żadna nie była w stanie przedstawić danych na temat trójwymiarowej struktury cystatyny C. Zbigniew zaprosił jednak do współpracy doświadczonych krystalografów z Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, a wśród nich Mariusza Jaskólskiego, Roberta Janowskiego i Macieja Kozaka, którzy dzięki nowatorskiemu myśleniu zdołali określić strukturę krystaliczną cystatyny C jako dimeru z wymianą domen. Był to duży krok naprzód w określeniu miejsca inhibitorowego cystatyny C, a jednocześnie argument za nową hipotezą na temat sposobu, w jaki natywne białka mogą agregować i tworzyć szkodliwe złogi fibrylarne towarzyszące chorobom amyloidowym takim jak choroby Alzheimer'a i Parkinsona.

Ponieważ cystatyna C występuje w płynach ustrojowych człowieka jako monomer, trójwymiarowa struktura dimeru nie najlepiej nadawała się do badań miejsca inhibitorowego monomeru. Jednakże znajomość struktury dimeru pozwoliła nam skonstruować wariant cystatyny C, który poprzez wprowadzenie wewnętrznego wiązania disulfidowego ustabilizowaliśmy jako monomer, także w strukturze krystalicznej. Trójwymiarowa struktura tego monomeru pozwoliła na wyciągnięcie wniosków dotyczących nie tylko miejsca inhibitorowego natywnego białka monomerycznego, ale także innych obszarów cząsteczki mających znaczenie dla jego stabilności.

Złogi amyloidowe występujące w mózgu osób starszych lub cierpiących na chorobę Alzheimer'a zbudowane są głównie z peptydu A β 42, produktu rozszczepienia prekursorowego białka amyloidu (APP). Współwystępują w nich jednak także znaczące ilości natywnej cystatyny C. Sugeruje to, iż natywna cystatyna C jest podatna na agregację, co zgadza się z jej tendencją do dimeryzacji podczas krystalizacji. W latach trzydziestych islandzki lekarz Arni Arnason zauważył, że około 25% członków niektórych dużych rodzin zmarło przed 30 rokiem życia z powodu krwotoku mózgowego. Chorobę tę nazwał „dziedzicznym krwotokiem mózgowym” (*hereditary brain haemorrhage*). Naturalnie, wielu członków tych rodzin pytało go, czy także mają gen wywołujący krwotoki mózgowie. Niestety, mógł im jedynie powiedzieć, że muszą umrzeć, aby mógł to stwierdzić. W ostatnim zdaniu swojej pracy magisterskiej *Apoplexie und ihre vererbung* napisał, że dwa najważniejsze cele stojące przez naukowcami zajmującymi się badaniem tej choroby to znalezienie sposobu na jej zdiagnozowanie i zrozumienie jej patofizjologii, aby można było ją leczyć. Około 40 lat później Gunnar

Gudmundsson zauważył, że krwotoki mózgowe w tej chorobie powodowane są przez złogi amyloidowe, chemicznego charakteru depozytów nie można było jednak określić. W 1983 roku udało się wyekstrahować niewielką ilość białka tworzącego złogi amyloidowe i oznaczyć sekwencję aminokwasową jego krótkiego fragmentu. Była ona identyczna z fragmentem sekwencji cystatyny C, którą określiliśmy wcześniej, a badania immunohistochemiczne potwierdziły, że białkiem tym jest rzeczywiście cystatyna C. Dalsze sekwencjonowanie wyekstrahowanego białka wykazało, że różni się ono jedną resztą aminokwasową – L68Q – od ustalonej wcześniej sekwencji cystatyny C. Aby określić, czy jest to mutacja powodująca chorobę, czy tylko polimorfizm, opracowaliśmy opartą na PCR prostą metodę analizy polimorfizmu fragmentów restrykcyjnych, która miała umożliwić zidentyfikowanie obu wariantów genów (alleli). Było to łatwe, ponieważ znaleźliśmy już sekwencję kwasu nukleinowego mRNA i gen dla cystatyny C. Mutację L68Q wykryto u wszystkich osób z krwotokami mózgowymi w dotkniętych chorobą rodzinach. Po około 50 latach postępu chemicznego osiągnięty został zatem pierwszy cel wyznaczony przez Arnego Arnasona: 1 mikrolitr krwi umożliwia identyfikację nosicieli genów skutkujących krwotokami mózgowymi. Ma to wielki wpływ na kliniczne postępowanie z tymi pacjentami, pozwalając między innymi na diagnozę prenatalną. Patofizjologia choroby nadal nie została jednak wyjaśniona.

Osiągnięcie tego celu jest ważne nie tylko dlatego, iż pozwoliłoby na opracowanie terapii dla stosunkowo niewielu islandzkich pacjentów z mutacją L68Q, ale również dlatego, iż proces agregacji skutkujący powstawaniem włókienek amyloidowych może zachodzić również w znacznie częściej występujących zaburzeniach o podłożu amyloidowym, na przykład w rodzinnej polineuropatii amyloidowej, a także w chorobach Alzheimera i Parkinsona. Trójwymiarowe struktury monomerycznej i dimerycznej cystatyny C nie tylko stanowiły poparcie dla hipotezy zamiany domen jako ważnego ogólnego mechanizmu tworzenia amyloidu, ale także umożliwiły identyfikację ważnych oligomerów cystatyny C poprzedzających tworzenie włókienek amyloidowych. Dalsze badania z wykorzystaniem modelowania molekularnego, zaawansowanych metod fizykochemicznych, takich jak mikroskopia sił atomowych, małąkatowe rozpraszanie neutronów i dyfuzometryczny magnetyczny rezonans jądrowy, produkcja odmian cystatyny C o zwiększonej lub zmniejszonej tendencji do oligomeryzacji oraz synteza pochodnych peptydylowych zakłócających oligomeryzację cystatyny C pozwoliły na szczegółowe wyjaśnienie procesu agregacji i opracowanie odczynników opóźniających lub powstrzymujących ten proces. Postęp ten nie byłby możliwy bez wiedzy i doświadczenia Macieja Kozaka, Sylwii Rodziewicz-Motowidło, Anety Szymańskiej, Roberta Kołodziejczyka i innych polskich naukowców z Gdańska i Poznania.

Nawet jeśli ma się konkretny plan badań – na przykład wyjaśnienie struktury i funkcji cystatyny C – zawsze powinno się być otwartym na to, że osiągnięte wyniki okażą się interesujące również dla innych dziedzin nauki. Dla przykładu, kiedy postawiliśmy hipotezę, że cystatyna C jest katabolizowana przez nerki poprzez wydzielanie przez filtrację kłębuszkową i późniejszą degradację w komórkach kanalikowych, badaliśmy pacjentów z obniżoną czynnością nerek (zmniejszoną szybkością filtracji kłębuszkowej), a wyniki wykazały silną odwrotną korelację między poziomem cystatyny C w osoczu a szybkością filtracji kłębuszkowej, nie tylko potwierdzając naszą hipotezę, ale także wskazując, iż poziom cystatyny C w surowicy lub osoczu jest najlepszym wskaźnikiem funkcji nerek. Po pierwszej publikacji tego odkrycia w 1979 roku opublikowano ponad 3500 prac podkreślających rolę cystatyny C w monitorowaniu czynności nerek. W niektórych z tych badań ważną rolę odegrali polscy naukowcy, między innymi Joanna Pollak z Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy. Wiedza o strukturze i znacznym rozmiarze cystatyny C pozwoliła niedawno na odkrycie nowego zaburzenia funkcjonowania nerek, określanego jako zespół zwężonych porów („Shrunkened Pore Syndrome”), w którym pory kłębuszkowe tracą zdolność filtrowania dużych cząsteczek, takich jak cystatyna C, zachowując jednocześnie zdolność filtrowania małych, takich jak kreatynina. Zespół zwężonych porów okazał się częstym zaburzeniem powodującym wyjątkowo wysoką śmiertelność pacjentów. Na szczęście patofizjologia tego zaburzenia wydaje się umożliwiać jego leczenie.

Ta długotrwała i udana współpraca polsko-szwedzka – w którą zaangażowanych było o wiele więcej polskich naukowców niż tu wspomniano, a którzy wymienieni zostali w ponad 35 artykułach naukowych – prawdopodobnie nie byłaby możliwa, gdyby Zbigniew Grzonka nie zainicjował regularnych spotkań polsko-szwedzkich dotyczących omówionych tu tematów. Spotkania te zaczęto organizować w Gdańsku w 1996 roku i trwają nadal; do tej pory odbyło się ich czternaście, na przemian w Polsce i w Szwecji.

BIBLIOTEKA
UNIwersytecka
Gdańsk

DZS UG
I 118

1923/2019



UNIwersytet Gdański



ChemiaUG