

Recenzja pracy doktorskiej mgr Michała Szcześniaka
pt. „Nowe metody identyfikacji mikroRNA”
wykonanej w Laboratorium Bioinformatyki, Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii
Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
pod kierownictwem prof. UAM dr hab. Izabeli Makałowskiej

Praca doktorska mgr Michała Szcześniaka dotyczy bardzo młodej i dynamicznie rozwijającej się tematyki badawczej jaką jest regulacja ekspresji genów przez mikroRNA (miRNA). Pomimo intensywnych badań skala działania tego systemu regulacyjnego nadal nie jest dobrze poznana, ponieważ nieznaną jest jeszcze liczba wszystkich miRNA funkcjonujących w komórkach nawet najlepiej zbadanych pod tym względem organizmów.

Profesor Izabela Makałowska, która jest wybitnym bioinformatykiem i ekspertem w zakresie wyszukiwania funkcjonalnych sekwencji w genomach i transkryptomach, postawiła przed mgr Michałem Szcześniakiem ambitny cel stworzenia lepszych metod identyfikacji miRNA i znalezienia, z użyciem opracowanych metod, nowych cząsteczek regulatorowych funkcjonujących w organizmach roślinnych i zwierzęcych. Doktorant podjął się realizacji tego wyzwania w stymulującym do nowych odkryć środowisku naukowym Instytutu, którego pracownicy mają na swoim koncie szereg osiągnięć w dziedzinie badań miRNA uzyskanych metodami doświadczalnymi.

Mgr Michał Szcześniak wywiązał się z postawionych zadań wzorowo. W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej zawarł trzy pierwszoautorskie prace twórcze opublikowane w latach 2012 i 2013 w renomowanych czasopismach: *BMC Bioinformatics*, *Plant Cell Physiol* i *Nucleic Acids Research* oraz pracę przeglądową opublikowaną w *Postęпах Biochemii*. W Jego dorobku naukowym znajdują się ponadto dwie prace twórcze opublikowane w 2011r w *Molecular Biology and Evolution* i *Nucleic Acids Research* oraz praca przeglądowa z 2009r opublikowana w czasopiśmie *Postępy Biologii Komórki*. Jest to bardzo duży dorobek publikacyjny jak na osobę ubiegającą się o stopień naukowy doktora.

W pierwszej pracy wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt. „HuntMi: an efficient and taxon-specific approach in pre-miRNA identification”, opublikowanej w *BMC Bioinformatics*, Michał Szcześniak jest równorzędnym pierwszym autorem. Praca ta opisuje ulepszoną metodę identyfikacji miRNA *de novo*, eliminującą wady wcześniej stosowanych metod tego typu i poprawiającą skuteczność działania klasyfikatora w zakresie czułości i specyficzności. Wybrana metoda nauczania maszynowego, dodatkowy zestaw cech użytych do klasyfikacji oraz lepsze dopasowanie wielkości zbioru pozytywnego i negatywnego doprowadziły do powstania metody, która okazała się lepsza i bardziej elastyczna w stosowaniu niż znane dotąd metody identyfikacji miRNA *de novo* takie jak microPred, PlantMiRNAPred czy MiRenSVM.

Druga pierwszoautorska praca mgr Szcześniaka pt. "miRNEST database: an integrative approach in microRNA search and annotation", będąca częścią Jego pracy doktorskiej, ukazała się w corocznym specjalnym tomie *Nucleic Acids Research* poświęconym prezentacji nowych i zaktualizowanych baz danych. Praca ta, podobnie jak wcześniej opisana publikacja, wychodzi naprzeciw oczekiwaniom środowiska badaczy miRNA dotyczącym intensyfikacji poszukiwań nowych zwierzęcych, roślinnych i wirusowych miRNA. Podejście badawcze (potok analityczny) zastosowane w tej pracy różni się jednak od użytego w pracy z *BMC Bioinformatics* tym, że wykorzystuje metody oparte na homologii sekwencji i poszukuje nowych miRNA o sekwencji podobnej do znanych już miRNA. Doktorant poszukiwał nowych miRNA w dostępnych bazach sekwencji EST (etykietek sekwencji ulegających ekspresji), pochodzących z ponad 200 organizmów zwierzęcych i około 200 roślinnych. Wśród znalezionych 10 tysięcy potencjalnych miRNA jedynie 300 było już zdeponowanych w referencyjnej bazie miRBase. Autor zidentyfikował również prawie 7 tysięcy sekwencji docelowych dla roślinnych miRNA pochodzących z niemal 200 gatunków. Wyniki te zostały zdeponowane w aktualizowanej obecnie bazie danych miRNEST.

Trzecia oryginalna praca twórcza pt. "ERISdb: a database of plant splice sites and splicing signals" opublikowana w 2013r w *Plant Cell Physiol* dotyczy w istotnej części identyfikacji alternatywnych form splicingowych genów miRNA. Praca ta ma również ambicję poszerzenia ciągle dość skromnej wiedzy na temat miejsc splicingowych w roślinnych transkryptach. Wykorzystuje w tym celu bazy sekwencji EST z kilku gatunków roślin i nowo opracowane algorytmy. Doktorant zidentyfikował wiele ortologicznych miejsc splicingowych, ciągów polipirymidynowych, miejsc rozgałęzienia oraz elementów cis-regulatorowych w intronach i eksonach. Znalazł też miejsca splicingowe w genach 45 miRNA z 5 gatunków roślin. Wszystkie te wyniki zostały zdeponowane w bazie danych ERISdb.

Ostatnia praca wchodząca w skład rozprawy doktorskiej pt. "Bazy danych mikroRNA" opublikowana została w *Postęпах Biochemii*. Autor przedstawia w niej informacje o istniejących już około 60 bazach danych dotyczących różnych aspektów biologii miRNA. Jest to użyteczny przewodnik po bazach miRNA przydatny zarówno dla początkujących jak i zaawansowanych badaczy.

Wykonując swoją pracę doktorską mgr Szcześniak wykazał się głębokim zrozumieniem tematyki badań i dużą kreatywnością. Zaowocowało to bardzo wartościowymi publikacjami. Wszystkie cztery prace przeszły już proces oceny przez recenzentów renomowanych specjalistycznych czasopism. Poproszę zatem Doktoranta, aby podczas publicznej obrony wypowiedział się na temat możliwości weryfikacji wszystkich nowo przewidywanych sekwencji miRNA przez wyniki głębokiego sekwencjonowania miRNA, na temat kryteriów funkcjonalności miRNA, oraz biologicznego znaczenia tzw. izomirów.

W załączonych do rozprawy oświadczeniach zarówno Doktorant jak i wszyscy współautorzy przedstawionych powyżej czterech publikacji określili swoją rolę w ich powstawaniu. Z tych oświadczeń wynika jednoznacznie, że rola pierwszego autora była dominująca lub bardzo znacząca w każdej z tych prac, na każdym etapie ich powstawania.

W podsumowaniu tej recenzji stwierdzam, iż oceniana praca spełnia wszystkie wymogi merytoryczne i formalne stawiane rozprawom doktorskim. Ze względu na zastosowane w niej nowatorskie rozwiązania metodyczne i znaczenie wyników tych prac dla poznawania biologii miRNA stawiam wniosek o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Michała Szcześniaka.

