

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr Elżbiety Wanowskiej

Poznań, 28.05.2021

Pani mgr Elżbieta Wanowska przedstawiła rozprawę doktorską pt „Regulatorowe Funkcje ludzkich długich niekodujących RNA”, promotorem pracy jest Prof.UAM dr hab. Michał Szcześniak. Rozprawa doktorska ma postać cyklu, w skład którego wchodzi trzy publikacje: 1. Wanowska, E., Kubiak, M.R., Rosikiewicz, W., Makałowska, I. & Szcześniak, M. W. Natural antisense transcripts in diseases: From modes of action to targeted therapies. *Wiley Interdiscip Rev* (, (218). Doi: 10.1002/wrna.1461; 2. Szcześniak, M.W., Wanowska, E., Mukherjee, N., Ohler, U. & Makałowska, I. Towards a deeper annotation of human lncRNAs. *Biochim.Biophys Acta Gene Regul Mech* (2019) doi: 10.1016/j.bbagr.2019.05.003; 3. Wanowska, E., Kubiak, M., Makałowska, I. & Szcześniak, M. w. A chromatin associated splicing isoform of OIP5-AS1 acts in cis to regulate the OIP5 oncogene. *RNA Biol* 1-12 (2021) doi: 10.1080/15476286.2021.1871816.

2. Ocena formalna: w pracy doktorskiej doktorantka prezentuje cykl złożony z trzech publikacji, pierwsza ma charakter przeglądowy, pozostałe dwie są pracami oryginalnymi. Praca przeglądowa została opublikowana w czasopiśmie *Wiley Interdisciplinary Reviews RNA* (IF 6,846), i jak napisała doktorantka stanowi usystematyzowanie wiedzy na temat niekodujących transkryptów, praca ta stanowi również doskonały wstęp do pozostałych zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej prac oryginalnych. Geny kodujące białka stanowią tylko 2% ludzkiego genomu, podczas gdy ponad 70% transkryptomu stanowią tzw. RNA niekodujące. Klasa tych cząsteczek jest zróżnicowana, w jej skład wchodzi zarówno dłuższe do około 200nt lncRNA, jak i znacznie krótsze cząsteczki takie jak miRNA, tRNA, rRNA, snRNA, snoRNA, piRNA oraz komórkowe siRNA i saRNA. Wspólną cechą tych cząsteczek jest udział w regulacji ekspresji genów, w różny sposób wpływając na proces metylacji, modyfikację chromatyny, działając jako korepresory, koaktywatory transkrypcji, oddziałując z samym mRNA, kierując alternatywnym składaniem eksonów. W pracy przeglądowej doktorantka wraz ze współautorami skupiła się na lncRNA, jego funkcji oraz związku z chorobami. Kolejna praca cyklu została opublikowana w *Biochimica et Biophysica Acta-Gene Regulatory Mechanisms* (IF: 3,510). W tej publikacji na podstawie analiz *in silico* spośród 41400 nowych lncRNA zostały wytypowane 5, które następnie zostały eksperymentalnie scharakteryzowane co do lokalizacji komórkowej, specyficzności tkankowej, ilości, stabilności, poliadenylacji, konserwatywności ewolucyjnej, co z kolei umożliwiło spekulacje na temat ich roli w komórce. Ponadto wytypowano 24 lncRNA, które potencjalnie mogą służyć jako biomarkery raka piersi. W ostatniej pracy cyklu

opublikowanej w czasopiśmie RNA Biology (IF:5,350) doktorantka skupiła się na lncRNA OIP5-AS1, za pomocą analizy bioinformatycznej oraz szeregu eksperymentów potwierdzono, że cząsteczka ta może wiązać się z szeregiem białek jądrowych w tym z SMARCA4, który jest częścią kompleksu SWI/SNF biorącego udział w remodelowaniu chromatyny. Podsumowując, przedstawiony do oceny cykl artykułów stanowi spójny tematycznie zbiór. Pani mgr Elżbieta Wanowska jest dwukrotnie pierwszym autorem, w jednej pracy drugim autorem, wszystkie trzy prace zostały opublikowane w dobrych impaktowanych czasopismach. Wkład pani mgr Wanowskiej w powstanie niniejszych prac został potwierdzony przez współautorów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że pani mgr Elżbieta Wanowska posługuje się zarówno narzędziami bioinformatycznymi, jak i potrafi korzystać z typowo eksperymentalnego podejścia do badanego zagadnienia.

2. Ocena merytoryczna. Ponieważ prace zawarte w cyklu zostały opublikowane w dobrych czasopismach, a przed opublikowaniem były recenzowane, w tej części chciałabym się skupić na ważności tematyki podjętej przez panią mgr Wanowską. O ile diagnostyka genetyczna w przypadku chorób tzw monogenowych jest technicznie prosta, w przypadku chorób nowotworowych jest nadal mało efektywna, a nasza wiedza na temat choroby nowotworowej jest nadal tylko przysłowiowym wierzchołkiem góry lodowej. Najczęściej badane zmiany w postaci substytucji, małych i dużych delecji w wybranych genach dotyczą tylko niektórych chorych. Taki stan rzeczy związany jest ze specyfiką procesów zachodzących w komórkach nowotworowych, w których ten sam histologiczny typ nowotworu może mieć zupełnie inny profil genetyczny, a tym samym znalezienie „wspólnych” cech genetycznych charakterystycznych dla „większości” przypadków jest niemożliwe. Ma to implikacje poczynając od zdiagnozowania choroby, aż do tzw. Indywidualizacji leczenia włącznie. Problem jest ważny, ponieważ w Polsce ponad milion osób choruje na choroby nowotworowe, a dostępne terapie często umożliwiają jedynie przedłużenie życia. Stąd duża potrzeba znalezienia cząsteczek, które jako biomarkery mogłyby posłużyć do diagnostyki, monitorowania przebiegu choroby oraz tzw. terapii celowanych. Ze względu na udział niekodujących RNA w szeroko pojętej regulacji ekspresji genów są one bardzo intensywnie badane pod kątem zastosowania jako cząsteczek markerowych w onkologii. Ze względu na dużą stabilność mogą być łatwo izolowane zarówno ze świeżego materiału, jak i z tkanek utrwalonych do badań histopatologicznych. Występują w postaci krążącej np. w krwioobiegu, jak i w wydzielinach czy też wydalinach, co z kolei sprawia, że pozyskiwanie materiału do badań jest mało inwazyjne. Obecnie wraz z rozwojem technik sekwencjonowania oraz narzędzi bioinformatycznych możliwa jest analiza dostępnych danych zebranych w różnych bazach, co z kolei sprawia, że wyszukiwanie kandydatów stało się łatwiejsze i mniej czasochłonne. Innym aspektem związanym z niekodującymi RNA jest lepsze poznanie procesów zachodzących w komórkach, takich

jak transkrypcja, translacja oraz szeroko pojęty metabolizm kwasów nukleinowych. Obydwa te aspekty są zawarte w przedstawionym cyklu prac.

Podsumowanie: W przedstawionym do oceny cyklu prac doktorantka skupiła się na lncRNA. Częsteczki te biorą udział w regulacji ważnych procesów komórkowych m. transkrypcji, a ich badanie ma ważny aspekt nie tylko poznawczy ale również brane są pod uwagę jako biomarkery wielu ludzkich chorób, w tym chorób nowotworowych. W pracy przeglądowej doktorantka wraz ze współautorami w bardzo interesujący sposób przedstawiła obecny stan wiedzy na temat lncRNA, w pozostałych dwóch pracach doktorantka skupiła się na wybranych lncRNA łącząc ze sobą analizę bioinformatyczną z technikami biologii molekularnej. Przedstawiony cykl prac oceniam bardzo wysoko, wnioskując o przyznanie pani mgr Elżbiecie Wanowskiej wyróżnienia.

Z poważaniem



Dr hab.. biol .med Katarzyna Lamperska