

Data: Toruń, 28 sierpnia, 2016

L. Dz.

Prof. dr hab. Wiesław Nowak
Zespół Teoretycznej Biofizyki Molekularnej
Instytut Fizyki
Uniwersytet M.Kopernika w Toruniu
87-100 Toruń, ul. Grudziądzka 5

RECENZJA rozprawy doktorskiej
Mgr Małgorzaty Szelağ
pt.

"In silico comparative structural and functional analysis of STAT to identify specific inhibitory compounds"

Procesy życiowe, a więc procesy biologiczne, oparte są, m.in., na przetwarzaniu informacji. Przemiany jednych związków chemicznych w inne zachodzące w komórkach warunkowane są zwykle obecnością enzymów. Aktywność enzymatyczna czy wyzwalanie bardziej złożonych przemian, takich jak np. transkrypcja genów, jest regulowana sygnałami biochemicznymi. Znamy coraz lepiej szlaki sygnałowe prowadzące do proliferacji komórek, różnicowania, zmian w metabolizmie czy apoptozy. Wiedza na temat transdukcji sygnałów jest krytycznie ważna w zrozumieniu działania komórek czy szerzej żywych organizmów. Mimo wysiłków, nie jest ona w wielu obszarach kompletna.

Zagadnienia poruszane w przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej pani mgr Małgorzaty Szelağ należą do obszaru badań nad mechanizmami przekazywania sygnałów (a więc mechanizmami przetwarzania „informacji”) w organizmach wyższych (głównie Homo sapiens). Badane były, przeważnie metodami komputerowymi, białka STAT (tj. białka sygnałowe i aktywatory transkrypcji) oraz białka IRF – czynniki transkrypcyjne regulujące interferon. Autorka wraz z zespołem współpracowników podjęła próbę zrozumienia aspektów strukturalnych mechanizmu przekazywania sygnałów przez te białka oraz znalezienia specyficznych inhibitorów STAT oraz IRF.

Zabierając się za recenzowanie rozprawy, zadałem sobie pytanie: czy modelowanie komputerowe takich zagadnień może stanowić podstawę do ubiegania się o stopień naukowy w dziedzinie nauk biologicznych, dyscyplinie biologia/biotechnologia? Wybitna „biologiczność” badanych problemów i stosowanych metod badawczych (m.in. wiele doświadczeń na testach biochemicznych opisanych w niektórych pracach) była dla mnie oczywista. Jednak klasyczna biotechnologia kojarzyła mi się dotąd z wykorzystaniem organizmów żywych do przemysłowej produkcji użytecznych substancji, np. ser, insulina czy piwo a nie z poszukiwaniem

selektywnych inhibitorów dimeryzacji białek. Jednak uważniejsza lektura publikacji doktorantki utwierdziły mnie w przekonaniu, że niemal cały wysiłek poświęcony jest na znalezienie skutecznych inhibitorów pewnych układów biochemicznych ważnych w procesach chorobowych. Inhibitory takie mogą być w przyszłości użyte jako nowe leki w poważnych chorobach, m.in. jako leki przeciwnowotworowe. A zgodnie z wieloma definicjami "biotechnologii", dostępnymi nawet w internecie, tego typu badania należą do modnej „biotechnologii czerwonej” [biotechnology - "any technological application that uses biological systems, living organisms or derivatives thereof, to make or modify products or processes for specific use" (UN Convention on Biological Diversity, Art. 2); "Red biotechnology is applied to medical processes. Some examples are the designing of organisms to produce antibiotics, and the engineering of genetic cures through genetic manipulation", Wikipedia]. Mogę zatem potwierdzić, że tematyka prac składających się na rozprawę lokuje się w obszarze współczesnych badań biologicznych, a nawet biotechnologicznych.

Zwykle w tym miejscu recenzji przedstawiam cel pracy. Niestety, natknąłem się na niespodziewaną trudność – Autorka dość starannie opisuje w Streszczeniu cele poszczególnych publikacji, ale nigdzie nie znalazłem syntetycznie sformułowanego celu badawczego rozprawy doktorskiej. Jak zatem mam ocenić czy cel rozprawy został osiągnięty? Wyteżając inteligencję, przyjąłem za przedstawienie celu rozprawy jedno zdanie ze Streszczenia: „Przedstawiona praca doktorska zapoczątkowuje podjęcie działań badawczych w celu lepszego zrozumienia białek STAT i IFR w odniesieniu do ich roli i funkcji fizjologicznych – wyłączając kontekst medyczny i farmakologiczny”. Przy takim założeniu uważam, iż cel rozprawy został w pełni osiągnięty. Zgadzam się też z tezą dość wyraźnie sformułowaną w ostatnim zdaniu „Summary”: „STAT and IRF structural models introduced in the following PhD thesis can help us understand how these transcription factors bind to DNA motifs and interact with other proteins in the mechanism of regulating gene expression”.

Rozprawa doktorska, przygotowana pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Johannes A.R. Bluijssena (promotor) i dr Anny Czerwoniec (promotor pomocniczy, Zakład Bioinformatyki) w Zakładzie Genetyki Molekularnej Człowieka, Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu) jest napisana w języku angielskim. Składa się ze streszczenia w języku ang. (12 stron), streszczenia w języku polskim (13 stron), oświadczeń Autorki rozprawy i współautorów nt. ich wkładu do poszczególnych publikacji wieloautorskich (14 stron) oraz kopii 5 publikacji (ok. 80 stron), które ukazały się w renomowanych czasopiśmie międzynarodowych z listy ISI. Rozprawę zamykają podziękowania. Od strony technicznej rozprawa przygotowana jest bardzo starannie. Forma

rozprawy jest zgodna z dopuszczoną przez znowelizowaną ustawę o stopniach naukowych, w której czytamy: " 4. Rozprawę doktorską może także stanowić samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej, jeżeli wykazuje ona indywidualny wkład kandydata przy opracowywaniu koncepcji, wykonywaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, odpowiadający warunkom określonym w ust. 1." Do moich obowiązków jako recenzenta należy ocena „indywidualny wkład kandydatki” do tego cyklu publikacji. Opierając się załączonych a dość szczegółowo sformułowanych oświadczeniach, analizie treści publikacji, posiłkując się przy tym faktem iż mgr Małgorzata Szelaąg jest 3 razy pierwszym autorem publikacji, zaś 2 razy dzieli pierwszeństwo z dr Anna Czerwoniec, stwierdzam, że indywidualny wkład kandydatki do tego cyklu był wiodący, bardzo duży i decydujący dla powstania tych prac.

Przedstawię kolejno ocenę Streszczenia, publikacji 1-5 i uwagi merytoryczne na ich temat. Drobne uwagi formalne podam w dalszej części recenzji.

Streszczenie rozprawy ma charakter eseju wprowadzającego w tematykę rozprawy. Autorka pokrótce opisuje sygnalizację międzykomórkową, próbuje dość niejasno definiować „sygnalizację krzyżową” („cross-talk”), opisuje pokrótce układ immunologiczny i cytokiny. Obszerniejszy i ciekawszy jest opis dwóch kluczowych dla rozprawy grup białek: przekaźników sygnału i aktywatorów transkrypcji (STAT – *Signal Transducers and Activators of Transcription*) oraz czynników regulujących interferon (IRF – *Interferon Regulatory Factors*). STATy aktywowane są całym szeregiem czynników stymulujących – m.in. cytokinami, czynnikami wzrostu (EGF PGF) czy białkami Src bądź Abl. Szlak aktywacyjny poprzez interferony czy interleukiny polega na fosforylacji zachowanej w STAT-ach tyrozyny i wykorzystaniu takiej p-Tyr do dimeryzacji białek STAT. Dimeryzacja zachodzi poprzez oddziaływania domen SH2. Dimery przechodzą do jądra komórkowego i regulują (poprzez kompleksy białkowe) transkrypcję wielu genów. Domeny SH2 białek STAT były badane czy dyskutowane w większości publikacji składających się na rozprawę. Jednym z głównych wątków było poszukiwanie skutecznych i specyficznych inhibitorów dimeryzacji STATów poprzez wysokoprzepustowy dokowanie setek tysięcy czy nawet milionów małowymiarowych związków organicznych.

W Streszczeniu opisane są kolejno cele i główne wyniki publikacji składających się na rozprawę. Napisane jest ono zwięźłym i na ogół poprawnym językiem, chociaż miałem wrażenie, że Autorka w wersji polskiej nadmiernie trzymała się angielskiego pierwowzoru, ze szkodą dla stylu (np. „konstytutywna aktywacja szlaku JAK-STAT została powiązana z nowotworami złośliwymi”; „Na podstawie otrzymanych wyników wywnioskowaliśmy, że wykorzystując jako pierwotne miejsce wiązania ewolucyjnie zachowaną kieszeń PY+0 w

domenie SH2, STAT1C nie jest specyficznym inhibitorem h STAT3"). Streszczenie dowodzi doskonałej orientacji Autorki w literaturze związanej z badanymi procesami i białkami. Szkoda, że nie znalazło się w nim miejsce na opis, chociaż skrótowy, podstawowej metodologii modelowania białek (nie opisanej też w publikacjach 1-5), ani bliższy opis metody dokowania stosowanej w programie SURFLEX. Niezależnie od tych drobnych uwag krytycznych podkreślam, że Streszczenie bardzo mi się podobało ze względu na bardzo „informatywny” oraz logiczny charakter, zatem oceniam je wysoko.

1. „*In silico simulations of STAT1 and STAT3 inhibitors predict SH2 domain cross-binding specificity*”; M. Szelag, K. Sikorski, A. Czerwoniec, K. Szatkowska, J. Wesoly; European Journal of Pharmacology 720 (1), (2013) 38-48. (IF ~2.5)

Badania teoretyczne białek z rodziny STAT (jest ich obecnie znanych 7) są utrudnione z powodu braku kompletu struktur 3D białek ludzkich. W banku PDB, poza ludzkim 1BF5 jest tylko kilka homologicznych białek z innych organizmów, które posłużyły doktorantce do utworzenia modeli STAT1-3. Procedura opisana w publikacji wydaje się właściwa, oparta była na dobrze udokumentowanych procedurach i serwerach grupy prof. J. Bujnickiego. Słusznie dokonano przed rozpoczęciem dokowania starannej oceny jakości modeli białek, ponieważ nawet subtelne różnice w budowie mogłyby zmienić wnioski dotyczące stałych inhibicji dla poszczególnych ligandów. Korzystając z popularnego programu dokującego Surflex-Dock 2.6 zbadano oddziaływanie znanych inhibitorów zwanych STAT1C oraz pochodnych fosforanowych fludarabiny (FLU) z modelami STAT1-3. Bardzo cenną częścią pracy starannie zaplanowane i wykonane doświadczenia *in vitro* na liniach komórkowych HMFC sprawdzające w jakim stopniu oba inhibitory hamują fosforylację indukowaną interferonem alfa i LPSem. Wyniki są moim zdaniem bardzo ważne – pokazują dość dobitnie, iż znany wcześniej inhibitor STAT1C nie jest specyficzny tylko dla STAT3, ale wiąże się równie skutecznie do STAT1 i STAT2. Wynik ten stawia pod znakiem zapytania terapeutyczne wykorzystanie tego obiecującego związku, przynajmniej w nie modyfikowanej postaci. Co ciekawe, FLU hamuje fosforylację hSTAT1 i hSTAT2, ale nie działa na hSTAT3. Praca ta z pewnością wnosi nową wiedzę i lepsze rozumienie natury oddziaływań w krytycznie ważnych domenach SH2, pozwala też zrozumieć sposób wiązania badanych inhibitorów do klasycznych kieszeni w tych domenach, przyczynia się zatem do lepszego zrozumienia części ważnej rodziny białek na poziomie molekularnym.

Z lektury tej publikacji wyniknęło kilka pytań czy wątpliwości:

- 1) Nie ma jednoznacznej informacji jakie ładunki cząstkowe ligandów były użyte w modelowaniu
- 2) Nie wiadomo czy „protomole” wykorzystane do programu Surflex_Dock były jednoznaczne, tzn. czy badane układy peptydowe miały dobrze wyodrębnione minima; moje doświadczenie jest takie, że zwykle czteropeptydy mają bardzo bogaty krajobraz energetyczny (nawet miliardy lokalnych minimów) i znalezienie minimum globalnego jest bardzo trudne, Czy zastosowanie „sztywnych” fragmentów z eksperymentu nie wniosło artefaktów w wyborze „protomoli”? Jak ten problem był testowany?
- 3) Nie mam jednoznacznej wiedzy (ani z publikacji, ani z oświadczeń współautorów) kto wykonał obliczenia DFT programem Gaussian09 dla ligandów pTyr, Flu, FluM etc.). Nie kwestionuję zastosowania funkcjonału DFT typu M05-2X, ale jest to dość niestandardowy funkcjonał i byłbym ciekaw (nie ma tej informacji w rozprawie) czym podyktowany był ten, a nie inny wybór funkcjonału DFT.
- 4) Nie mam pewności czy dobrze rozumiem rysunek 3 z omawianej publikacji. W panelach A, C, E nie ma wyjaśnienia stosowanej skali kolorów. Nie ma opisu jaka jest rola podanego w reprezentacji „wireframe” p-Tyr-fosfopeptydu. Wg mnie, jeśli zachodzi dimeryzacja, to taki układ p-Ty pochodzi z drugiego monomeru homodimeru SH2, Czy tak poważne zagłębienie tego fragmentu SH2 STAT jest możliwe, jeśli rozważymy nie czteropeptyd, a cały łańcuch monomeru? Być może to jest kwestia rzutu pokazanego na obrazku (Fig. 3), ale mam wrażenie, że szkielet ilustrujący orientację czteropeptydu na panelach A, C, E jest “niebezpiecznie blisko” powierzchni (?Connolly’ego) reprezentującej pierwszy monomer.
- 5) Nie znalazłem informacji o stanie protonowania histydyn obecnych w modelach STATx. W szczególności kwestia stopnia uprotonowania histydyny H617 pokazanej na panelu B rysunku 7 jest szczególnie istotna: rejon kieszeni pY+1 jest ważny dla wiązania inhibitorów. Wiadomo, że ładunki na atomach założone w programie Surflex Docks szczególnie mocno wpływają na wyniki dokowania, zaś pKa histydyn jest ok. 7, zatem ocena czy proton w danej histydynie jest, czy go nie ma, jest trudnym zadaniem. Byłbym wdzięczny za wyjaśnienie tej wątpliwości w czasie obrony.
- 6) Nie wiem jakie są obyczaje czasopiśmie European Journal of Pharmacology, ale moim zdaniem praca sporo by zyskała, gdyby podano proste wzory 2D zarówno inhibitora STATIC jak i Flu, nawet bez pochodnych.

Niezalenie od tych pytań czy uwag „do dyskusji” praca ta mi się bardzo podobała, jest napisana bardzo jasno, wnioski wyciągane są ostrożnie, zastosowano wiele metod badawczych a modelowanie pozwoliło odkryć nowe cechy inhibitorów i wnieść wkład do biologii. Wyniki modelowania ładnie korelują z wynikami pomysłowych eksperymentów *in vitro*.

2. “Comparative screening and validation as a novel tool to identify STAT-specific inhibitors”; M. Szelać, A. Czerwoniec, J. Wesoly, HAR. Bluysen; European Journal of Pharmacology 740, (2014) 417-420. (IF=2.54)

Doświadczenie zdobyte w modelowaniu inhibicji pierwszych kilku białek z grupy STAT autorzy próbują przekształcić w trwały schemat służący efektywnemu poszukiwaniu specyficznych inhibitorów danej grupy białek. Stąd powstała druga praca mająca charakter metodologiczny. Są w niej zebrane (na przykładzie białek STAT) pożyteczne wskazówki w jaki sposób realizować przeszukiwanie baz potencjalnych leków (np. bazy ZINC) tak by skutecznie wyłowić najbardziej obiecujące związki. Problem nie jest nowy, propozycji rozwiązania tego problemu w literaturze można znaleźć wiele, ale wciąż jest zapotrzebowanie na nowe pomysły i propozycje, bowiem jednego „złotego standardu” nie ma. Metoda opisywana w omawianej publikacji się sprawdziła, więc może być przydatna w analogicznych zagadnieniach. Podkreślam tutaj słowo „może”, ponieważ sukces schematu dla białek STAT nie gwarantuje, że przyjęcie poszczególnych progów, dokowania wg SURFLEXu, poszukiwanie „protomola”, etc. przyniesie dobre rezultaty np. w blokowaniu białek typu DHRF, MDM2 czy innych. Mocną stroną pracy jest pomysł stworzenia „linii produkcyjnej”, w której wybrane „in silico” związki byłby badane doświadczalnie w esejach oceniających przebieg fosforylacji. Słabą stroną jest dość ogólnikowa prezentacja tego pomysłu, w szczególności autorzy nie piszą jak konkretnie byłby obliczany indeks służący do rankingu: „comparative STAT affinity score value”. Nie ma też informacji czy modele STATów sygnalizowane w tej i wcześniejszej pracy są udostępnione publicznie dla innych badaczy. Mam wrażenie, że ta publikacja jest tylko drobnym wstępem do poważniejszej pracy opublikowanej w PLoS One.

3. “Identification of STAT1 and STAT3 specific inhibitors using comparative virtual screening and docking validation”; M. Szelać, A. Czerwoniec, J. Wesoly, HAR. Bluysen; PLoS One 10 (2), (2015) e0116688 (IF=3.4)

Ten artykuł zawiera solidną dawkę konkretnych wyników poszukiwania selektywnych inhibitorów STAT1 i STAT3 przy użyciu zaanonowanego wcześniej schematu *Comparative Virtual Screening*. W zasadzie wyczerpuje tylko dwa pierwsze kroki (przeszukiwanie bibliotek, identyfikacja obiecujących inhibitorów) i nie zawiera wyników klasycznych testów/doświadczeń biochemicznych. Punktem wyjścia jest ponownie zbiór struktur 3D (modeli homologicznych) ludzkich białek STAT. Ponownie opisane są procedury generowania tych modeli. Przeszukiwane były dwie bazy (podzbiory znanej bazy ZINC) (a) NP. – produkty naturalne, ok. 130 tys. (b) CL – czyste „leads” (5.7 mln związków). Autorzy wprowadzają dwa indeksy: CBAV (*STAT Comparative Binding Affinity Value*) oraz LBPV (*Ligand Binding Pose Variation*). Tworząc jakościowo słuszną kombinację tych indeksów wyznaczają heurystycznie pewne progi wartości da odcięcia tych inhibitorów, które powinny wykazywać skuteczność i specyficzność we wiązaniu do poszczególnych białek STAT. Podane progi dla laika są tajemnicze ale, jak rozumiem, konkretne wartości są wynikiem wielu testów i krytycznej analizy danych, inne grupy mogą stosować mniej lub bardziej liberalne progi. W omawianej pracy nie znalazłem porządnej definicji ani CBAV ani LBPV, być może po prostu Surflex „wyrzuca” te parametry, jednak z racji ich rangi w tej publikacji dobrze byłoby wiedzieć skąd one się biorą. W pracy zaprezentowano pożyty najlepszy inhibitorów. Wyniki są obszerne, omawiane krytycznie, publikacja zawiera dużo szczegółowych danych i bardzo porządne rysunki. Zwraca uwagę dogłębna dyskusja wyników i doskonale osadzenie w literaturze. Jest to dowód na wielki nakład pracy włożonej przez doktorantkę w badanie inhibitorów. Zdaję sobie również sprawę z tego, że uzyskanie tych wyników wymagało wielkich zasobów komputerowych, ponieważ nawet okrojone dokowanie (*pre-screen*) dla tak dużych baz (miliony związków) zajmuje wiele czasu CPU. Praca prezentuje wysoki poziom naukowy, sądzę, że jest na poziomie światowym publikacji tego typu obserwowanych w literaturze specjalistycznej.

Jeśli miałbym tutaj być krytyczny, to mógłbym jedynie ubolewać, że autorzy nie pokusili się o przetestowanie dokowania tej niewielkiej wykrytej serii obiecujących inhibitorów przy pomocy innych znanych programów dokujących, opartych na innych paradygmatach, np. Glide czy Gold, jeśli wyniki byłyby zgodne z Surflexem, wzmocniłoby to znacznie wagę złożonych propozycji inhibitorów. Dokowanie realizowano dla sztywnych modeli białek, ciekawe jak na wyniki wpłynęłoby „full flexible docking” – tj. modyfikacją nie tylko miękkich stopni swobody ligandów ale i adaptacją struktury białka w obszarze kieszeni? Dociekliwemu czytelnikowi utrudnia życie szyfrowanie nazw związków (Table 5/ page 13/22) bez podawania wzorów strukturalnych. (NP.-3_1 do NP._3_5). Wygląda na to, że są to nazwy robocze stosowane lokalnie w publikacji, zatem bez znajomości tych wzorów żadna grupa badawcza nie jest w stanie zreprodukować wyników dla STAT3-CBAV czy LBPV_{0+x}. Mimo tych uwag krytycznych

traktuję pracę z PLoS One jako główny i to pozytywny rdzeń osiągnięć rozprawy doktorskiej mgr M. Szelaĝ.

4. "CAVS—*Novel in silico selection strategy of specific STAT inhibitory compounds*";
A. Czerwoniec, M. Szelaĝ, K. Juszczaĝ, J. Wesoly, HAR. Bluysen;
Journal of Computational Science 10, (2015) 186-194 (IF=1.08)

W tej pracy wreszcie natknąłem się na definicje waĝnych parametrów CBAV oraz LBPV! W publikacji rozwinięty jest koncept porównawczego przeglądu baz w poszukiwaniu selektywnych inhibitorów dimeryzacji białek STAT. Po klasycznym wstępie prezentującym biologiczne aspekty i znaczenie problemu następuje prezentacja schematu automatycznego dokowania, oraz nowych narzędzi ułatwiających to zadanie. Narzędzia takie trzeba było wymyśleć, opracować (zasługa MS i innych autorów) oraz, co bardzo waĝne, zaprogramować – zasługa pana K. Juszczaĝa. Dopiero „sprytne” skrypty w PYTHONie (całkiem nie-biologicznym gadzie) pozwoliły wykonać doktorantce imponującą pracę zaprezentowaną we wcześniejszej publikacji. Nie lekceważyłbym tej pozornie technicznej publikacji jako wkładu do biotechnologii. Dziedzina ta wymaga komputerów. Wymaga ludzi umiejących twórczo skorzystać z tych maszyn. Wymaga powaĝnych umiejętności z dziedziny nie tylko programowania ale i inĝynierii programowania. Wymaga równieĝ specjalistów rozumiejących głąboko zagadnienia biologiczne, problemy ekspresji genów, ale teĝ zdolnych do samodzielnego programowania i stawiania w odpowiednim języku problemów dla „czystych” informatyków. Wydział moĝe być dumny, ŝe ma w swoim składzie takich nowoczesnych specjalistów. Tak rozumiana interdyscyplinarność jest potrzebna i napęda światową naukę. Bez narzędzi komputerowych biotechnologia byłaby znacznie, znacznie uboĝsza.

5. "Targeted inhibition of STATs and IRFs as a potential treatment strategy in cardiovascular disease";
M. Szelaĝ, A. Piaszyk-Borychowska, M. Plens-Gałaska, J. Wesoly and H. A. R. Bluysen; DOI: 10.18632/oncotarget.9195 (IF~6).

Było dla mnie bardzo pouczającym doświadczeniem zapoznanie się z pracą nr 5 (Oncotarget) zaraz po lekturze artykułu opisującego „kuchnię” masowych obliczeń przesiewowych. Okazuje się, ŝe zahamowanie szlaków sygnałowych realizowanych z udziałem białek STAT czy IRF jest niezwykle waĝnym celem w zapobieganiu czy leczeniu chorób sercowo-naczyniowych (CVD). Arterioskleroza trapi niestety wielu z nas. W artykule tym mamy solidny przegląd literaturowy związków omawianych białek z chorobami CVD, opis wpływu tych grup na ekspresję genów

(genetyka, biologia), dyskusje wysiłków firm farmaceutycznych nt. poszukiwań naturalnych inhibitorów STAT3 (Kurkuma, Resveratrol i in.) przegląd podejmowanych prób klinicznych, przegląd prób modelowania ważnych w tym szlaku sygnałowym oddziaływań, przypomnienie własnego schematu CAVS w kontekście chorób CVD. Trzeba podkreślić, że w publikacji są zaprezentowane też nowe wyniki na temat modeli strukturalnych kompleksów hIRF1 i IRF8 z DNA (domeny DBD) oraz wyniki poszukiwania inhibitorów IRF1 i IRF8. Wymagało to kolejnych czasochłonnych obliczeń i analiz. Jest to zatem pokazanie sensu wysiłków doktorantki ukierunkowanych na znalezienie specyficznych inhibitorów STAT i IRF i leczenie chorób (*red biotechnology*). Praca jest obszerna, nasycona informacjami i ciekawa, dowodzi dużej erudycji autorów i zdolności do selektywnego wybierania danych. Chciałem nawet pochwalić grupę, iż udało się ten przegląd opublikować w czasopiśmie z wysokim Impact Factor, tj. ok. 6, jednak po zapoznaniu się z krytyką tego nowego czasopisma (<https://scholarlyoa.com/2016/04/19/oncotargets-peer-review-is-highly-questionable/>) ograniczę się do komentarza: Jeśli w „Oncotarget” są jakieś prace słabe, to praca jaką uważnie przeczytałem z pewnością do nich nie należy i podnosi poziom czasopisma. Na pewno stanowi doskonałe podsumowanie i uzasadnienie sensu prac prowadzonych w ramach recenzowanej pracy doktorskiej mgr M. Szelağ.

Strona edytorska recenzowanej rozprawy jest praktycznie bez zarzutu. Zwykle wyszukuje się w doktoratach błędnie stosowane terminy, żargonowe sformułowania czy inne literówki. Tutaj wszystkie publikacje przeszły system recenzji, redakcji, korekty, były zapewne wielokrotnie poprawiane i trudno mi było wyłowić jakieś „smaczki”. Skupiłem się zatem na Streszczeniu napisanym przez doktorantkę, i tu jest literówka: w podrozdziale „Rola białek STAT i IRF w organizmie” : mamy „udział w regulacji genów pacy serca”... a wcześniej dziwny zwrot: „udział dysfunkcje”. Pewnie znalazłoby się coś więcej, ale nie to stanowi o jakości pracy.

Pragnę zaznaczyć, że uwagi te nie pomniejszają mojej wysokiej oceny całości badań i poziomu rozprawy.

Podsumowanie i konkluzja

Stwierdzam, że przedłożona mi do oceny, w postaci cyklu wieloautorskich publikacji, rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Szelağ stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, demonstrowa wiedzę doktorantki w naukach biologicznych, a w szczególności w biotechnologii, oraz wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, tj. spełnia w zupełności wymagania ustawowe [Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i

tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, ze zm. w Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365 oraz w Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455 z późn. zm., tekst jednolity Dz. U. z dnia 21 czerwca 2016 r. poz. 882. i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim. **Wnoszę zatem o dopuszczenie Pani magister Małgorzaty Szelaż do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Gdyby składające się na rozprawę publikacje były jednoautorskie, nie miałbym najmniejszych wątpliwości, że takie dzieło bezwzględnie zasługiwałoby na wyróżnienie ze względu na pomysły, nakład pracy i użyteczne wyniki w 5 publikacjach o zasięgu światowym. Jednak forma rozprawy (zbiór publikacji wieloautorskich – minimum 4 autorów) utrudnia mi spokojne sformułowanie takiego wniosku. Publikacje wyszły z aktywnego zespołu, prezentującego wysoki poziom badań, doktorantka miała przywilej opieki dwóch doświadczonych osób, doskonałe zaplecze i wsparcie. Ja mam niewielkie doświadczenie osobiste w recenzowaniu prac doktorskich przedstawionych w takiej nowoczesnej formie (tj. zbioru współautorskich artykułów), zaczynają się one dopiero pojawiać, zatem, chcąc nie chcąc, muszę napisać, że jeśli Rada Wydziału, znając jednak lepiej zasługi i sylwetkę doktorantki, zechce wyróżnić Jej rozprawę – będę zadowolony.

W. Nowak