



prof. dr hab. Izabela Makałowska

Poznań, 10.03.2021

Instytut Biologii i Ewolucji Człowieka

Wydział Biologii

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

w Poznaniu

### **Ocena osiągnięć dr Barbary Uszczyńskiej-Ratajczak**

**w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego**

**w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.**

Dr Barbara Uszczyńska-Ratajczak uzyskała tytuł magistra na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Następnie swoją edukację kontynuowała na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza, gdzie w roku 2009 rozpoczęła studia drugiego stopnia na kierunku biologia, specjalność bioinformatyka. Studia te ukończyła w roku 2011 uzyskując tytuł magistra. Już dwa lata później, w roku 2013, obroniła pracę doktorską pt. „*Optymalizacja ścieżek analizy danych niestandardowych uzyskiwanych przy użyciu mikromacierzy DNA*”, którą wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Piotra Kozłowskiego w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Po uzyskaniu stopnia doktora dr Barbara Uszczyńska-Ratajczak odbyła dwa staże podoktorskie, pierwszy w Centre for Genomic Regulation w Barcelonie, a następnie w Centrum Nowych Technologii Uniwersytetu Warszawskiego. Od roku 2019 pracuje na stanowisku starszego badacza w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie.

### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Na osiągnięcie naukowe habilitantki składa się cykl trzech wieloautorskich prac zatytułowany „*Genomiczna charakterystyka długich niekodujących RNA w genomach człowieka i myszy*”. Dwie z prac składających się na cykl są oryginalnymi pracami badawczymi, trzecia jest pracą o charakterze przeglądowym, ale zawiera także nowe opracowania danych i bez wątpienia wnosi nowe informacje dotyczące identyfikacji i katalogowania

lncRNA. Wszystkie trzy prace ukazały się w czasopismach o najwyższej randze, a sumaryczny współczynnik oddziaływania tych czasopism (IF) wynosi 83,283. W momencie składania wniosku prace były cytowane łącznie 174 razy. W pierwszej pracy oryginalnej, opublikowanej w czasopiśmie *Nature Communications*, habilitantka jest drugą z osiemnastu autorów z zaznaczeniem, że jej udział jest równy udziałowi pierwszego autora. W drugiej oryginalnej pracy badawczej, która ukazała się w czasopiśmie *Nature Genetics*, dr Barbara Uszczyńska-Ratajczak jest także drugą autorką, ale z takim samym zaznaczeniem, że udział pierwszego i drugiego autora jest jednakowy. Praca ta ma jedenastu autorów. W pracy przeglądowej, opublikowanej w *Nature Reviews, Genetics* habilitantka jest pierwszym z pięciu autorów.

W publikacjach stanowiących osiągnięcie habilitacyjne wkład dr Uszczyńskiej-Ratajczak jest oszacowany odpowiednio na 30%, 30% i 50%. W przypadku dwóch publikacji udział ten jest opisany bardzo ogólnikowo, jednakże pozycja habilitantki na liście autorów oraz udział procentowy jednoznacznie wskazują na to, że był on znaczący, a prace te mogą stanowić podstawę osiągnięcia naukowego. Udział każdego ze współautorów jest określony w załączonych odpowiednich oświadczeniach.

Zgodnie z Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, osiągnięcie naukowe może stanowić cykl publikacji powiązanych tematycznie. Oceniany cykl w mojej opinii spełnia wymagane kryterium.

Cele badawcze jakie postawiła sobie habilitantka dotyczą kwestii związanych z sekwencjonowaniem i adnotacją długich niekodujących RNA. W swoich badaniach dr Uszczyńska-Ratajczak główną uwagę poświęciła wykorzystaniu wysokoprzepustowych technologii sekwencjonowania oraz tworzeniu nowych podejść do katalogowania lncRNA. Mogłoby się wydawać, że po upływie 20 lat od czasu zakończenia Projektu Sekwencjonowania Genomu Człowieka genom ten nie tylko jest już w pełni poznany pod kątem znajdujących się tam genów, ale i nasze metody badawcze związane z identyfikacją funkcjonalnych elementów genomu są dopracowane. Rozwój technologii wysokoprzepustowych i metod obliczeniowych powinny, teoretycznie, ten proces nie tylko przyspieszyć, ale i ułatwić. Jak bardzo jest to mylne można przekonać się sprawdzając dane w czołowych bazach danych i przeglądarkach genomowych. Liczba adnotowanych tam genów, zarówno tych kodujących białka jak i tych niekodujących, istotnie się różni. Dane z wysokoprzepustowych technologii z jednej strony pozwalają nam na coraz lepsze zrozumienie tego jak funkcjonują komórki, a co za tym idzie całe organizmy, ale z drugiej są niezwykle problematyczne ze względu na swoją złożoność i trudności w odróżnieniu prawdziwych sygnałów od sygnałów fałszywie pozytywnych. Problem ten jest szczególnie duży w przypadku długich niekodujących RNA. Dlatego też, wyzwanie jakie podjęła habilitantka jest niezwykle trudne i jednocześnie niezwykle istotne.

W pierwszej z prac stanowiących osiągnięcie naukowe, pracy pt. *Extension of human lncRNA transcripts by RACE coupled with long read high-throughput sequencing (RACE-Seq)* i opublikowanej w czasopiśmie *Nature Communications*, dr Uszczyńska-Ratajczak skupiła się na ukierunkowanych metodach sekwencjonowania, które pozwoliłyby na bardziej precyzyjną identyfikację lncRNA, szczególnie w odniesieniu do końców 5' i 3'. Opracowana metoda RACE-seq, polegająca na połączeniu powszechnie stosowanej metody RACE z sekwencjonowaniem średniej długości odczytów z użyciem platformy 454, pozwoliła na detekcję ponad 2 tysięcy nowych transkryptów i poprawienie wcześniejszych adnotacji. Metoda okazała się szczególnie efektywna w wydłużaniu genów na obu końcach. Innowacyjne podejście polegało nie tylko na połączeniu metody RACE z wysokoprzepustowym sekwencjonowaniem, ale także na zastosowaniu zagnieżdżonych starterów co istotnie zwiększało wydajność metody. Wynikiem pracy była nie tylko nowa metoda usprawniająca identyfikację lncRNA, a szczególnie końców genów, ale także wykazanie niekompletności katalogu GENCODE będącego wynikiem dużego projektu o tej samej nazwie i skupionego na identyfikacji wszystkich funkcjonalnie istotnych elementów genomów człowieka i myszy.

W powyżej omówionej pracy habilitantka zwróciła także uwagę na pewne ograniczenia metody. Wymienić tutaj można zarówno ograniczenia przepustowości jak i możliwości uzyskania transkryptów o pełnej długości. Dlatego też podjęty został kolejny krok w kierunku lepszego poznania zestawu lncRNA w genomach człowieka i myszy. Efektem tych prac była publikacja pt. *High-throughput annotation of full-length long noncoding RNAs with capture long-read sequencing*, która ukazała się w czasopiśmie *Nature Genetics*. Sama ranga czasopisma wskazuje na ogromną wartość przeprowadzonych badań naukowych. W celu ulepszenia istniejących modeli genów nowych loci lncRNA, zaprojektowana została metoda CLS (z ang. *Capture Long Sequencing*). W metodzie tej zaprojektowane zostały sondy komplementarne do rejonów ludzkich i mysich lincRNA (ang. *long intergenic noncoding RNA*) oraz rejonów, w których potencjalnie mogły znajdować się niezidentyfikowane dotąd lncRNA, np. ultra zachowanych elementów UCE (ang. *ultra conserved elements*). W badaniach wykorzystano biblioteki pochodzące z różnych narządów myszy i człowieka oraz z dwóch powszechnie wykorzystywanych linii komórkowych. Jako platformę sekwencjonowania wybrano Pacific Biosciences RS II (PacBio) pozwalającą na uzyskiwanie długich, osiagających nawet kilkadziesiąt tysięcy par zasad, odczytów. Efektem podjętych prac była identyfikacja zarówno nowych lncRNA jak i nowych transkryptów znanych już wcześniej genów. Zastosowana metoda pozwoliła także na poprawę jakości istniejących modeli. Otrzymane wyniki zostały niemal natychmiast pozytywnie zweryfikowane i wykorzystane przez zespół GENCODE. W rezultacie połączenia wyników z CLS z zestawami lncRNA znajdującymi się w GENCODE, powstał GENCODE+ dla myszy i człowieka. Wykorzystanie wyników badań w tak renomowanym projekcie, poza rangą czasopisma, w którym praca się ukazała, dodatkowo podkreśla znaczenie i wagę przeprowadzonych badań.

Habilitantkę nie zadowoliło jednak samo opracowanie metody i wygenerowanie wysokiej jakości danych. W celu usprawnienia procesów katalogowania lncRNA opracowała narzędzie bioinformatyczne pozwalające na wysokiej jakości adnotacje z jednoczesnym ograniczeniem udziału człowieka. W narzędziu tym wykorzystane zostało nowatorskie podejście do składania transkryptów, w którym zachowywane są wewnętrzne miejsca startu transkrypcji i miejsca poliadenylacji. Pozwoliło to na uzyskanie większej liczby modeli transkryptów, a porównanie z innym oprogramowaniem wskazało na lepszą jakość uzyskanych modeli. Projekt pozwolił także na weryfikację naszej wiedzy dotyczącej lncRNA. Uzyskane wyniki wskazują np. na to, że transkrypty lncRNA są dłuższe niż dotychczas uważano oraz, że przeciętnie zawierają więcej niż dwa egzony, na co wskazywały dotychczasowe dane. Analiza danych CHIP-seq wykazała natomiast obecność cech, które różnicują rejony promotorowe lncRNA i mRNA.

Ostatnia z prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne to praca o charakterze przeglądowym opublikowana w czasopiśmie *Nature Reviews, Genetics*. Z powodzeniem jednak publikację pt. *Towards a complete map of the human long non-coding RNA transcriptome* można uznać, za pracę w dużym stopniu badawczą. Zadając sobie pytanie na ile kompletna jest nasza wiedza dotycząca liczby lncRNA w genomach człowieka i myszy, dr Uszczyńska-Ratajczak przeprowadziła dogłębną analizę zawartości dziesięciu katalogów lncRNA. Analizie poddano zarówno kompletność adnotacji, rozumianej tutaj jako frakcję transkryptów o pełnej długości, jak i całkowitą liczbę genów (określoną na potrzeby pracy jako kompleksowość danego katalogu) i transkryptów przypadających na gen. Wyniki wyraźnie wskazują na brak pozytywnej korelacji pomiędzy kompleksowością, a kompletnością. Katalogi z największą liczbą genów charakteryzowały się niską zawartością modeli o pełnej długości. Z kolei bazy zawierające duży odsetek kompletnych transkryptów, odstawały pod względem kompletności. Istotne jest również wskazanie na to, że porównywane bazy lncRNA znacząco różniły się swoją zawartością. Nawet najbardziej popularne katalogi zawierały mniej niż 50% wspólnych genów lncRNA. Wynikać to może zarówno z istniejących braków jak i stosunkowo wysokiej zawartości danych fałszywie pozytywnych. Przeprowadzona przez habilitantkę analiza wskazuje na wielopoziomowość problemów związanych z identyfikacją i adnotacją lncRNA. Z jednej strony są to problemy natury biologicznej, wynikające ze zmian w poziomach ekspresji i interakcji pomiędzy transkrypcją i degradacją. Z drugiej, wpływają na to niedoskonałości stosowanych metod przygotowywania bibliotek i sekwencjonowania oraz metod wykorzystywanych do analizy danych sekwencyjnych. Warto tutaj wspomnieć, że opracowywane przez habilitantkę metody przedstawione jako osiągnięcie habilitacyjne istotnie przyczyniły się zarówno do podniesienia kompleksowości jak kompletności adnotacji genów lncRNA.

Podsumowując tę część oceny stwierdzam, że przedstawiony cykl publikacji stanowiących osiągnięcie habilitacyjne spełnia zarówno warunki merytoryczne jak i formalne określone przez Ustawę o stopniach i tytule naukowym. Przedstawione w publikacjach badania są nie tylko ciekawe i nowatorskie, ale także w niezwykle istotny sposób przyczyniają się do rozwoju dyscypliny.

## Ocena pozostałej aktywności naukowej

Dr Barbara Uszczyńska-Ratajczak, poza publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia, ma w dorobku 13 publikacji naukowych (zgodnie z załącznikiem nr 5), w tym 12 w czasopiśmie znajdujących się w bazie Journal Citation Reports. IF czasopism, w których ukazały się publikacje wynosi od 0,946 do 11,501, a łączna wartość współczynnika to 57,032. Udział habilitantki w publikacjach przedstawionych jako dorobek naukowy waha się pomiędzy 10% a 50%. Prace dr Uszczyńskiej-Ratajczak cytowane były 287 razy, a wliczając publikacje zawarte w osiągnięciu habilitacyjnym 461 razy. Indeks Hirscha habilitantki według bazy Web of Science wynosi 9. Dr Uszczyńska-Ratajczak jest pierwszą autorką w dwóch publikacjach, a w przypadku pięciu jej wkład jako drugiego autora określony jest jako identyczny z wkładem autora pierwszego. W żadnej natomiast publikacji habilitantka nie jest ostatnim, wiodącym autorem.

Tematyka publikacji jest bardzo zróżnicowana co nie jest czymś wyjątkowym w przypadku osoby zajmującej się bioinformatyką i współpracującej z wieloma grupami badawczymi. Szkoda jednak, że habilitantka ograniczyła swój autoreferat do problematyki osiągnięcia naukowego i nie przedstawiła szerzej swoich pozostałych zainteresowań naukowych, a szczególnie obecnie realizowanych badań. Z krótkich opisów udziału dr Uszczyńskiej-Ratajczak wywnioskować można, że zaangażowana była głównie w analizy różnego rodzaju danych z wysokoprzepustowych technologii, w tym danych z mikromacierzy, spektroskopii mas oraz sekwencjonowania transkryptomów. Dorobek publikacyjny habilitantki świadczy o umiejętności nawiązywania współpracy, a także o tym, że jej umiejętności związane z analizą danych są doceniane i chętnie włączana jest przez innych badaczy do zespołów. Współpraca natomiast nie ogranicza się do najbliższego otoczenia, wiele z publikacji, których współautorem jest dr Uszczyńska-Ratajczak powstało we współpracy międzynarodowej. Habilitantka jest także bardzo aktywnym członkiem konsorcjum GENCODE.

Habilitantka wykazała się dobrą aktywnością konferencyjną. Aktywnie uczestniczyła w 11 konferencjach z czego w pięciu przypadkach prezentowała swoje wyniki w formie wystąpienia ustnego. W pozostałych przypadkach były to plakaty.

Dr Uszczyńska-Ratajczak wykazała się także umiejętnością zdobywania finansowania na swoje badania. Była kierownikiem finansowanego przez NCN w ramach programu POLONEZ projektu *Principles of mitochondrial protein compartmentalization in vertebrates*, a od września 2019 roku jest kierownikiem projektu *Po ciemnej stronie genomu: Identyfikacja długich niekodujących RNA w genomie Danio rerio*. Niestety wykaz publikacji nie wskazuje na to, aby efektem realizowanych projektów były publikacje naukowe. O ile w przypadku obecnie realizowanego projektu może to być uzasadnione ciągle jeszcze krótkim okresem jego realizacji, o tyle w przypadku wcześniejszego projektu można by spodziewać się przynajmniej jednej oryginalnej pracy badawczej z wiodącą rolą habilitantki. Jednakże poza pracą przeglądową opublikowaną w *Journal of Cell*

*Science*, trudno wskazać publikację tematycznie powiązaną z projektem, którym kierowała.

Jednym z istotnych elementów oceny badacza jest jego rozpoznawalność w świecie naukowym. O tym, że habilitantka dała się rozpoznać jako kompetentny naukowiec świadczy powołanie jej do grona ekspertów przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju oraz Komisję Europejską w ramach programu SME Instrument. Współpracując z tymi instytucjami, habilitantka oceniła w sumie około 60 projektów badawczych. Narodowe Centrum Badań i Rozwoju powołało także dr Uszczyńską-Ratajczak do pełnienia funkcji przewodniczącej panelu.

O ile aktywność związana z oceną projektów badawczych jest całkowicie zadowalająca, o tyle niepokoi fakt, że habilitantka została jedynie dwukrotnie poproszona o recenzję artykułu naukowego, a także jedynie dwa razy zaproszona została do wygłoszenia wykładu. Temat, którym się zajmuje z pewnością nie jest niszowy co mogłoby usprawiedliwiać tę sytuację. Być może powiązane jest to z tym, że dr Uszczyńska-Ratajczak nie występuje w publikacjach jako wiodący, pierwszy lub ostatni autor, a to właśnie wśród tych najczęściej poszukiwani są recenzenci artykułów.

Podsumowując tę część oceny mogę stwierdzić, że dorobek naukowy habilitantki spełnia wymagania stawiane osobom wnoszącym o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Liczba publikacji oraz wskaźniki naukometryczne są na typowym dla tego etapu rozwoju naukowego poziomie. Moje spostrzeżenia dotyczące braku publikacji, w których habilitantka pełniłaby rolę lidera oraz znikomej liczby recenzowanych artykułów nie umniejszają w istotny sposób mojej pozytywnej oceny dorobku naukowego dr Uszczyńskiej-Ratajczak.

#### **Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego**

Ocena dorobku habilitantki w zakresie dydaktyki, organizacji i popularyzacji nauki jest nieco kłopotliwa. Jedynym doświadczeniem dydaktycznym dr Uszczyńskiej-Ratajczak jest opieka naukowa nad jednym studentem oraz czterema doktorantami. W tym ostatnim przypadku w charakterze opiekuna lub promotora pomocniczego. Można przypuszczać, że brak doświadczenia dydaktycznego wynika z charakteru i miejsc zatrudnienia habilitantki. W przypadku większości staży podoktorskich możliwości nabycia doświadczenia dydaktycznego w zasadzie nie istnieje. Obecne natomiast miejsce pracy jest jednostką typowo badawczą, nieprowadzącą działalności o charakterze edukacyjnym.

Dorobku w zakresie działań organizacyjnych oraz popularyzatorskich dr Uszczyńska-Ratajczak nie wymieniła. Należałoby oczekiwać wykazania się choć minimalną działalnością w tych obszarach. Pozostaje mieć nadzieję, że brak tych informacji wynika, przynajmniej po części, z niedopatrzenia.

Podsumowując ten punkt recenzji, stwierdzam, że o ile skromny dorobek dydaktyczny habilitantki może być

usprawiedliwiony, o tyle całkowity brak dorobku organizacyjnego i popularyzatorskiego nieco trudno uzasadnić.

### **Wniosek końcowy**

***Po szczegółowej analizie osiągnięcia naukowego oraz całokształtu działalności naukowej, dydaktycznej i popularyzatorskiej doktor Barbary Uszczyńskiej-Ratajczak stwierdzam, że osiągnięcia habilitantki, pomimo braku działalności w sferze organizacyjnej i popularyzatorskiej, odpowiadają wymaganiom, jakie zgodnie Ustawą o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym powinien spełniać kandydat ubiegający się o stopień doktora habilitowanego. Dlatego zwracam się do Rady naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk z wnioskiem o nadanie dr Barbarze Uszczyńskiej-Ratajczak stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.***

*J. M. / me*