



Kraków, 11 maja 2022 r.

UNIwersytet Jagielloński w Krakowie  
WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII  
ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

dr hab. Wojciech Strzałka  
Kierownik Zakładu  
Biotechnologii Roślin  
Tel.: (12) 66 46 410  
Fax: (12) 66 46 902  
E-mail: wojciech.strzalka@uj.edu.pl

## **Ocena osiągnięcia naukowego oraz istotnej aktywności naukowej Pani dr Anny Philips ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego**

Do oceny przedstawiono komplet dokumentów, na który składają się:

1. autoreferat w języku polskim i angielskim zawierający:
  - informacje o uzyskanych tytułach i stopniach naukowych oraz dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych;
  - tytuł osiągnięcia oraz wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego i stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego, uzupełniony informacjami dotyczącymi ich parametrów naukowych;
  - omówienie osiągnięcia naukowego, w tym jego celów, oraz uzyskanych rezultatów,
  - omówienie pozostałych osiągnięć naukowych;
  - informacje na temat istotnej aktywności naukowej realizowanej w i poza Instytutem Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk;
  - informacje o osiągnięciach dydaktycznych oraz organizacyjnych;
  - lista nagród, wyróżnień i stypendiów;
2. wykaz osiągnięć naukowych;
3. publikacje naukowe wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, będącego podstawą postępowania habilitacyjnego;
4. oświadczenia współautorów publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe.

Na przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe, zatytułowane: „**Opracowanie metod i narzędzi analizy ilościowej i jakościowej kolistych RNA oraz ich wykorzystanie w różnych układach biologicznych**”, składają się cztery publikacje oryginalne, które ukazały się w latach 2019-2021. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (z ang. Impact Factor, IF) wszystkich czterech publikacji wynosi 19,064. Na podstawie analizy przeprowadzonej z wykorzystaniem bazy Scopus dnia 05.05.2022 roku, ustalono łączną liczbę cytowań tych prac, wynoszącą 22. W skład łącznego dorobku naukowego Habilitantki wchodzi 16 publikacji eksperymentalnych,

opublikowanych w czasopismach indeksowanych w bazie Scopus o sumarycznym współczynniku oddziaływania 82,342 oraz dwa rozdziały w monografiach naukowych. W dniu 05.05.2022 roku wszystkie prace Habilitantki cytowane były łącznie 335 według bazy Scopus, a wartość indeksu Hirsha wynosiła 8.

W roku 2013, na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Pani Anna Philips, pod opieką Pana prof. dr hab. Janusza Bujnickiego, obroniła pracę doktorską pt. „Nowe metody bioinformatyczne do przewidywania miejsc wiązania i ligandów w strukturach RNA”. Od 2013 roku Habilitantka jest zatrudniona w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk (ICHB PAN) w Poznaniu na stanowisku adiunkta, a od 2020 roku pełni funkcję kierownika Pracowni Bioinformatyki.

## **OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO**

Analizując transkrypty komórek ludzkich i mysich ponad dwie dekady temu odkryto koliste cząsteczki RNA (circRNA). Początkowo ich obecność wiązano ze stanami chorobowymi, jakimi są nowotwory. Jednak wraz z postępem badań okazało się, że koliste odpowiedniki liniowych transkryptów występują w prawidłowych tkankach organizmów eukariotycznych. Do znaczącego przełomu w możliwościach badania circRNA przyczyniły się dynamiczny rozwój i szerokie upowszechnienie metod wysokoprzepustowych technik sekwencjonowania RNA. Dzięki postępowi technologicznemu oraz powszechnemu do nich dostępowi, związanym m. in. ze zmniejszeniem ich kosztów, generowane są ogromne ilości danych transkryptomicznych, które są zazwyczaj deponowane w publicznych bazach danych. Pomimo otwartego dostępu do tych danych, narzędzia bioinformatyczne umożliwiające pozyskanie informacji jakościowych, jak i ilościowych dotyczących circRNA, a następnie ich wiarygodne porównanie, były dotąd niedostępne. **W związku z powyższym nadrzędnymi celami badań podjętych przez Habilitantkę były: 1) opracowanie zoptymalizowanego protokołu służącego do identyfikacji oraz analizy jakościowej i ilościowej circRNA na podstawie danych wygenerowanych metodami wysokoprzepustowego sekwencjonowania RNA oraz 2) weryfikacja opracowanej metody z użyciem danych dotyczących różnych układów biologicznych.**

Pierwsza praca eksperymentalna, której pierwszym autorem jest Habilitantka, zatytułowana: „Expression Landscape of circRNAs in *Arabidopsis thaliana* Seedlings and Adult Tissues ” została opublikowana w 2020 roku w czasopiśmie „Frontiers in Plant Sciences”. W publikacji tej Habilitantka, wraz ze współautorami, zaprezentowała zoptymalizowaną metodę bioinformatyczną służącą do analizy profilu circRNA *A. thaliana*. W kolejnym kroku, analizując akumulację circRNA w siewkach oraz organach *Arabidopsis*, z użyciem wypracowanego protokołu, wykazała, że spośród zidentyfikowanych circRNA jedynie niewielka ich frakcja (około 1-2%) była obserwowana w sposób powtarzalny. Pośród badanych organów największą liczbę circRNA, których ilość była najwyższa, wykryto w korzeniach. Analiza powtarzalnych circRNA w siewkach, liściach oraz kwiatach

wykazała, że znaczącym wzbogaceniem ilościowym charakteryzowały się koliste transkrypty powstające na skutek ekspresji genów zaangażowanych w fotosyntezę oraz odpowiedź rośliny na stres. Nie wykazano ogólnej korelacji pomiędzy poziomami transkryptów kolistych i liniowych konkretnych genów co, jak sugeruje Habilitantka, wskazuje na różnice w mechanizmach ich biogenezy. Co warto podkreślić, w wyniku przeprowadzonych analiz, Habilitantka, w badanych organach *Arabidopsis*, zidentyfikowała circRNA pochodzenia nie tylko jądrowego, ale też chloroplastowego. Chociaż, jak sama przyznaje, dane te należy traktować z ostrożnością, to jednak ich weryfikacja innymi metodami wydaje się być niezwykle ciekawym zagadnieniem, które warto byłoby zbadać w przyszłości. Kolejnym ważnym osiągnięciem w przedstawionej publikacji jest opracowanie metody normalizacji danych umożliwiających porównanie wyników uzyskanych w różnych eksperymentach. Do walidacji tej metody wykorzystano technikę ddPCR (ang. *digital droplet polymerase chain reaction*).

Druga praca doświadczalna wchodząca w skład osiągnięcia naukowego Habilitantki, w której jest ona pierwszym autorem, zatytułowana „*Arabidopsis thaliana cbp80, c2h2, and flk* Knockout Mutants Accumulate Increased Amounts of Circular RNAs”, opublikowana została w 2020 roku w czasopiśmie „Cells”. Zaprezentowane w niej rezultaty są kontynuacją i rozszerzeniem badań przedstawionych w pracy pierwszej. W omawianej publikacji skoncentrowano się na identyfikacji genów *Arabidopsis*, których produkty zaangażowane są w biogenezę circRNA. W tym celu przeanalizowano transkryptomy *Arabidopsis* pozyskane z 18 różnych mutantów charakteryzujących się uszkodzeniem wybranego genu zaangażowanego w proces dojrzewania RNA. Na podstawie uzyskanych rezultatów wykazano, że w mutantach *cbp80, c2h2* oraz *flk*, poziom produkcji circRNA był wyższy w odniesieniu zarówno do roślin dzikich, jak i innych badanych mutantów i nie wiązał się ze zmianą w ekspresji innych genów. Pośród kluczowych obserwacji poczynionych przez Habilitantkę dla mutantu *cpb80* znalazły się zaburzona produkcja liniowych izoform transkryptów oraz duża liczba unikatowych circRNA. W przeciwieństwie do transkryptów circRNA obserwowanych w pozostałych badanych mutantach oraz roślinach kontrolnych, zidentyfikowane w mutancie *cpb80* unikatowe circRNA składały się wyłącznie z pierwszego eksonu. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy pracy zaproponowali, że obecność białek kodowanych przez geny *CPB80, C2H2* i *FLK* sprzyja tworzeniu liniowych izoform transkryptów. Ostatecznie postawiono hipotezę, że być może jeden z mechanizmów regulacji ekspresji circRNA związany jest ze składem i wzajemną proporcją białek zaangażowanych w dojrzewanie liniowych transkryptów RNA. Pytanie, czy poziom liniowych transkryptów u *Arabidopsis* może być bezpośrednio regulowany przez zmianę wydajności produkcji odpowiadających im circRNA, pozostaje wciąż otwarte.

Trzecia publikacja wchodząca w skład osiągnięcia naukowego Habilitantki, w której pełni ona funkcję autora korespondencyjnego, zatytułowana została „At-C-RNA Database, a One-stop Source for Information CircRNAs in *Arabidopsis thaliana* in a Unified Format” i opublikowana w czasopiśmie „Database” w 2021 roku. Bazę danych At-C-RNA przedstawioną w powyższej

publikacji utworzył zespół pracujący pod kierunkiem Habilitantki. Najważniejszymi nowymi, wcześniej niedostępnymi funkcjonalnościami bazy danych At-C-RNA jest możliwość integracji i standaryzacji danych dotyczących circRNA Arabidopsis. Omawiana baza integruje publicznie dostępne informacje uzyskane z wysokoprzepustowego sekwencjonowania RNA Arabidopsis. Zebrane dane zespół badaczy poddał odpowiedniej obróbce bioinformatycznej, w wyniku czego rezultaty wszystkich analizowanych eksperymentów zostały przedstawione w ujednocionej formie. Ponadto wszystkie dane zebrane w bazie At-C-RNA znormalizowano wykorzystując metodę opracowaną przez Habilitantkę i przedstawioną wcześniej w pierwszej publikacji eksperymentalnej. Podsumowując, opracowana baza danych zawiera publicznie dostępne informacje na temat circRNA Arabidopsis, które zostały odpowiednio uporządkowane i ujednoczone. Przeprowadzona z wykorzystaniem bazy At-C-RNA analiza porównawcza, wykorzystująca dane z wielu różnych eksperymentów, umożliwiła uzyskanie pełnego obrazu rozkładu circRNA w organach *A. thaliana*.

Czwarta praca eksperymentalna zatytułowana „Global Increase in Circular RNA Levels in Myotonic Dystrophy”, w której Habilitantka jest szóstym autorem, wieńczy cykl publikacji wchodzących w skład ocenianego osiągnięcia naukowego. Opublikowano ją w czasopiśmie „Frontiers in Genetics” w roku 2019. Rezultaty przedstawionych badań dotyczą dystrofii miotonicznej typu 1 (DM1). Powyższa jednostka chorobowa jest efektem mutacji, w wyniku której dochodzi do zwiększenia liczby powtórzeń CTG w regionie 3' UTR genu kinazy DMPK. Liczba powtórzeń CTG u osób zdrowych zazwyczaj zawiera się w przedziale od 5 do 34, natomiast u chorych na DM1 niejednokrotnie w przedziale od setek do tysięcy. Dane literaturowe wskazują, że produkcja zmutowanych transkryptów tej kinazy, zawierających zwiększoną liczbę powtórzeń CUG, prowadzi do wyłapywania białek typu muscleblind (MBNL). Na podstawie dostępnych danych wskazujących na rolę białek MBNL w biogenezie circRNA, a także ich ograniczoną funkcjonalność u pacjentów z DM1, Habilitantka postawiła hipotezę zakładającą, że w komórkach z mutacją wywołującą DM1, poziom wybranych circRNA jest obniżony. Do weryfikacji tej hipotezy Pani dr Philips zastosowała opisaną w pierwszej pracy metodę analizy circRNA korzystając z danych sekwencjonowania RNA zdeponowanych w bazie DMseq. Wbrew założonej hipotezie przeprowadzone badania wykazały, że globalny poziom circRNA w komórkach z mutacją prowadzącą do DM1 był podwyższony, a nie obniżony. Wzrost poziomu circRNA nie był rezultatem zmian globalnego poziomu transkrypcji ani efektem podwyższenia ekspresji liniowych odpowiedników circRNA. Ostatecznie uzyskane rezultaty poddały w wątpliwość wcześniejsze przesłanki wskazujące na istotną rolę MBNL w biogenezie circRNA u człowieka. Co więcej wykazano, że podwyższony globalny poziom circRNA, jak i podwyższony poziom indywidualnych circRNA w mięśniach piszczelowych przednich pacjentów z DM1, dobrze korelował z ostrością przebiegu choroby. Wskazuje to na potencjalną możliwość wykorzystania circRNA jako biomarkerów w DM1.

Podsumowując tę część recenzji, uważam, że rezultaty uzyskane przez Habilitantkę są bardzo interesujące i w istotny sposób wpływają na poszerzenie wiedzy dotyczącej circRNA u roślin. Ponadto rewidują one powszechne przekonanie o udziale białka MBNL w biogenezie circRNA w DM1. Na podstawie oceny osiągnięcia naukowego mogę stwierdzić, że aspirująca do stopnia doktora habilitowanego Pani dr Anna Philips jest niewątpliwie ekspertem w obszarze analiz bioinformatycznych circRNA.

## **OCENA ISTOTNEJ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ**

Pani dr Anna Philips swoją działalność naukową prowadziła w kilku ośrodkach naukowych. Tytuł magistra uzyskała na Wydziale Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu (UAM), gdzie zajmowała się analizą strukturalną konformacji liganda w dokowaniu białko-ligand. Badania te zakończyły się publikacją w czasopiśmie *Journal of Computational Biology*, której jest współautorem. Po ukończeniu studiów magisterskich Habilitantka rozpoczęła pracę w Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie, a następnie, po odbyciu rocznego stażu, podjęła studia doktoranckie na UAM pod kierunkiem prof. dr. hab. Janusza Bujnickiego. Badania prowadzone we współpracy z profesorem Bujnickim, w trakcie jak i po zakończeniu doktoratu Habilitantki, dotyczyły różnych aspektów analizy RNA w układzie *in silico*, w tym: metod przewidywania miejsc wiązania jonów metali w strukturach RNA, trójwymiarowej struktury RNA oraz interakcji RNA-ligand. Współpraca Habilitantki z prof. Bujnickim zaowocowała Jej współautorstwem w czterech publikacjach (łącznie IF=22,3), z czego trzy zostały opublikowane przed, natomiast jedna (w 2013 roku) po uzyskaniu stopnia doktora. Po ukończeniu doktoratu Pani dr Anna Philips została zatrudniona w ICHB PAN, gdzie pracuje do dzisiaj. Habilitantka współpracowała m.in. z grupami prof. Marka Figlerowicza i prof. Piotra Kozłowskiego (ICHB PAN), a także grupą dr hab. Joanny Mokrackiej (UAM), uczestnicząc w wielu projektach o zróżnicowanej tematyce badawczej. Rezultatem tych współprac jest 7 publikacji doświadczalnych, niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego, o łącznym współczynniku oddziaływania (IF=44,42), z sumaryczną liczbą cytowań równą 59 (dane na dzień 05.05.2022 r. według bazy Scopus). Ponadto Habilitantka jest współautorką dwóch rozdziałów w monografiach. Podsumowując powyżej omówioną istotną aktywność naukową Habilitantki, należy podkreślić, że z powodzeniem współpracuje ona z grupami badawczymi zajmującymi się różnorodną tematyką naukową (m.in. badaniami nowotworów, analizą bakterii patogenicznych kolonizujących ścieki miejskie, analizami filogenetycznymi), publikując prace w czasopismach o dobrych wskaźnikach IF. Prace sprzed, jak i po doktoracie, są dobrze cytowane.

Godnym uwagi jest fakt, że Pani dr Philips współpracuje również z otoczeniem gospodarczym. Efektem współpracy z firmą Adrigen jest współautorstwo w patencie, który został przyznany przez Polski Urząd Patentowy w roku 2021 i dotyczy metody izolowania kwasów nukleinowych drobnoustrojów z kału.

Habilitantka prezentowała rezultaty swoich badań w formie wykładów oraz plakatów na wielu krajowych oraz międzynarodowych konferencjach naukowych. Uczestniczyła także w organizacji konferencji naukowych oraz była członkiem międzynarodowych i krajowych towarzystw naukowych. Ponadto recenzowała artykuły dla czasopism „Bioinformatics”, „Scientific Reports” oraz „Frontiers Plant Science”, a w roku 2021 pełniła funkcję redaktora wydania specjalnego „Non-coding RNAs in the Growth and Development of Plants” na zaproszenie czasopisma „Cells”. Za swoją działalność naukową Habilitantka była wielokrotnie nagradzana m.in. Stypendium Ministra Edukacji i Nauki dla wybitnych młodych naukowców w 2021 roku, nagrodą ICHB PAN za najlepszą publikację eksperymentalną w 2019 roku, czy też nagrodą Polskiego Towarzystwa Bioinformatycznego za najlepszą pracę doktorską z bioinformatyki w roku 2014.

Należy podkreślić, że Habilitantka aktywnie pozyskuje środki na rozwój swoich zainteresowań naukowych. Była kierownikiem grantu PRELUDIUM-2, SONATA-8, grantu NCBR w konsorcjum z Ardigen SA (Mapa Mikrobiomu Polski). Obecnie jest kierownikiem grantu OPUS-21 w konsorcjum z Instytutem Podstaw Inżynierii Środowiska Polskiej Akademii Nauk w Zabrze.

Analizując działalność dydaktyczną Habilitantki, należy zwrócić uwagę na fakt, że, pomimo braku obowiązku prowadzenia działalności dydaktycznej, była recenzentką pracy licencjackiej, promotorką dwóch prac magisterskich oraz sprawowała opiekę nad doktorantami. Zatem działalność dydaktyczną Habilitantki oceniam jako więcej niż satysfakcjonującą.

Jeżeli chodzi o pozostałą działalność organizacyjną, to od roku 2020 Habilitantka pełni funkcję kierowniczkę Pracowni Bioinformatyki ICHB PAN. Ponadto pełniła ona funkcje członka zespołów przygotowujących materiały do oceny instytutów PAN i ewaluacji jednostek naukowych (prowadzonej przez MNiSW), komisji oceniającej pracowników ICHB PAN oraz była współorganizatorem jednej konferencji krajowej i trzech konferencji międzynarodowych.

## **WNIOSEK KOŃCOWY**

Podsumowując, Pani dr Anna Philips jest dojrzałą i twórczą specjalistką, posiadającą umiejętność prowadzenia skomplikowanych badań naukowych z pogranicza biologii molekularnej i bioinformatyki. Umiejętnie współpracuje z badawczymi ośrodkami krajowymi jak i zagranicznymi. Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe oraz istotna aktywność naukowa Habilitantki, upoważniają mnie do stwierdzenia, że Kandydatka spełnia kryteria stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). **W związku z powyższym popieram wniosek Pani dr Anny Philips o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**

