

AUTOREFERAT

Germinalne i somatyczne mutacje utraty funkcji w genach *TSC1* i *TSC2* – rola w nowotworzeniu oraz związek z fenotypem człowieka

Dr Katarzyna Klonowska

Instytut Chemii Bioorganicznej
Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Poznań, 2025

1. Imię i nazwisko

Katarzyna Klonowska

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

- 2017 **Stopień doktora nauk chemicznych w dziedzinie biochemii (z wyróżnieniem)**
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
Temat rozprawy doktorskiej: 'Poszukiwanie genów związanych z predyspozycją do raka piersi ze szczególnym uwzględnieniem zmian liczby kopii odcinków DNA jako czynnika ryzyka'
Promotor: prof. dr hab. Piotr Kozłowski
- 2013 **Tytuł magistra biotechnologii; biotechnologia w j. angielskim (z wyróżnieniem)**
Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań
Praca magisterska wykonana w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
Temat pracy magisterskiej: 'Analiza dużych mutacji w genie *BARD1* u pacjentów z rakiem piersi i/lub jajnika'
Promotor: prof. dr hab. Piotr Kozłowski
- 2011 **Tytuł licencjata biotechnologii**
Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań
Temat pracy licencjackiej: 'Analiza prekursorów mikroRNA w różnych stadiach rozwojowych roślin: wykorzystanie wysokoprzepustowej platformy qPCR'
Promotor: prof. dr hab. Artur Jarmołowski

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 03.2024 – obecnie **Kierownik grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS25**
Zakład Genetyki Nowotworów
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
- 01.2024 – obecnie **Kierownik Zakładu/Adiunkt**
Zakład Genetyki Nowotworów
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
- 04.2023 – 12.2023 **Adiunkt**
Zakład Genetyki Molekularnej
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
- 12.2020 – 11.2022 **Kierownik grantu TSC Alliance 'Postdoctoral Fellowship Grant Award 2020'**
Cancer Genetics Laboratory

- Brigham and Women's Hospital i Harvard Medical School w Bostonie, USA
- 04.2018 – obecnie **Post-doc/członek afiliowany**
Broad Institute of MIT and Harvard w Cambridge, USA
- 03.2018 – 03.2023 **Post-doc**
Cancer Genetics Laboratory
Brigham and Women's Hospital i Harvard Medical School w Bostonie, USA
- 01.2018 – 02.2018 **Specjalista biolog**
Zakład Genetyki Molekularnej
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
- 08.2016 – 08.2019 **Kierownik grantu Narodowego Centrum Nauki PRELUDIUM10**
Zakład Genetyki Molekularnej
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
- 01.2014 – 11.2017 **Doktorant**
Zakład Genetyki Molekularnej
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Geminalne i somatyczne mutacje utraty funkcji w genach *TSC1* i *TSC2* – rola w nowotworzeniu oraz związek z fenotypem człowieka.

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

Oświadczenia habilitantki i autora(ów) korespondencyjnego(ych) określające wkład habilitantki w przygotowanie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego zamieszczono w 'Załączniku 6'.

Formatowanie i skróty:

- Własne nazwisko - pogrubienie; Nazwisko(a) pierwszego(ych) autora(ów) - podkreślenie; Równy wkład autorów - #; Nazwisko(a) autora(ów) korespondencyjnego(ych) - *
- **MNiSW**: liczba punktów MNiSW czasopism z roku poprzedzającego ukazanie się publikacji
- **MNiSW₂₀₂₄**: liczba punktów MNiSW czasopism zgodnie z najnowszą listą opublikowaną 5.01.2024
- Wskaźniki Impact Factor (**2y-IF** – 2-letni Impact Factor, **5y-IF** – 5-letni Impact Factor) z roku poprzedzającego ukazanie się publikacji
- **Liczba cytowań**: Całkowita liczba cytowań (wg Web of Science), z dnia: 16.04.2025

- H1. Salussolia CL, Klonowska K, Kwiatkowski DJ, Sahin M*.**
Genetic Etiologies, Diagnosis, and Treatment of Tuberous Sclerosis Complex.
Annual Review of Genomics and Human Genetics, 2019, 20:217-240.
doi: 10.1146/annurev-genom-083118-015354
2y-IF₂₀₁₈=7.914; 5y-IF₂₀₁₈=9.290
MNI_{SW}=140, MNI_{SW}₂₀₂₄=140
Liczba cytowań =108 (102 bez autocytowań)
- H2. Klonowska K*, Giannikou K, Grevelink JM, Boeszoermenyi B, Thorner AR, Herbert ZT, Afrin A, Treichel AM, Hamieh L, Kotulska K, Jozwiak S, Moss J, Darling TN, Kwiatkowski DJ***
Comprehensive genetic and phenotype analysis of 95 individuals with mosaic Tuberous Sclerosis Complex
American Journal of Human Genetics, 2023, 110(6):979-988.
doi: 10.1016/j.ajhg.2023.04.002
2y-IF₂₀₂₂=9.8; 5y-IF₂₀₂₂=11.8
MNI_{SW}=200, MNI_{SW}₂₀₂₄=200
Liczba cytowań=18 (18 bez autocytowań)
- H3. Klonowska K, Thiele EA, Grevelink JM, Thorner AR, Kwiatkowski DJ*.**
Sporadic facial angiofibroma and sporadic angiomyolipoma mimicking tuberous sclerosis complex.
Journal of Medical Genetics, 2022, 59(9):920-923.
doi: 10.1136/jmedgenet-2021-108160.
2y-IF₂₀₂₂=5.945; 5y-IF₂₀₂₂=6.451
MNI_{SW}=140, MNI_{SW}₂₀₂₄=140
Liczba cytowań =1 (1 bez autocytowań)
- H4. Ogórek B, Hamieh L, Hulshof HM, Lasseter K, Klonowska K, Kuijff H, Moavero R, Hertzberg C, Weschke B, Riney K, Feucht M, Scholl T, Krsek P, Nabbout R, Jansen AC, Benova B, Aronica E, Lagae L, Curatolo P, Borkowska J, Sadowski K, Domańska-Pakieła D, Janson S, Kozłowski P, Urbanska M, Jaworski J, Jozwiak S, Jansen FE, Kotulska K; EPISTOP Consortium members, Kwiatkowski DJ*.**
TSC2 pathogenic variants are predictive of severe clinical manifestations in TSC infants: results of the EPISTOP study.
Genetics in Medicine, 2020, 22(9):1489-1497.
doi: 10.1038/s41436-020-0823-4
2y-IF₂₀₁₉=8.904; 5y-IF₂₀₁₉=10.435
MNI_{SW}=200, MNI_{SW}₂₀₂₄=200
Liczba cytowań =62 (57 bez autocytowań)

H5. Klonowska K*, Grevelink JM, Giannikou K, Ogorek BA, Herbert ZT, Thorner AR, Darling TN, Moss J, Kwiatkowski DJ*.

Ultrasensitive profiling of UV-induced mutations identifies thousands of subclinical facial tumors in tuberous sclerosis complex.

Journal of Clinical Investigation, 2022, 132(10):e155858.

doi: 10.1172/JCI155858

2y-IF₂₀₂₁=19.477; 5y-IF₂₀₂₁=19.232

MNiSW=200, MNiSW₂₀₂₄=200

Liczba cytowań =4 (3 bez autocytowań)

H6. Giannikou K*, Klonowska K, Tsuji J, Wu S, Zhu Z, Probst CK, Kao KZ, Wu CL, Rodig S, Marino-Enriquez A, Zen Y, Schaefer IM, Kwiatkowski DJ*.

TSC2 inactivation, low mutation burden and high macrophage infiltration characterise hepatic angiomyolipomas

Histopathology, 2023, 83(4):569-581.

doi: 10.1111/his.15005

2y-IF₂₀₂₂= 6.4 ; 5y-IF₂₀₂₂= 5.1

MNiSW=100, MNiSW₂₀₂₄=100

Liczba cytowań =2 (2 bez autocytowań)

H7. Adib E[#], Klonowska K[#], Giannikou K, Do KT, Pruitt-Thompson S, Bhushan K, Milstein MI, Hedglin J, Kargus KE, Sholl LM, Tsuji J, Hyman DM, Sisk A, Shapiro GI, Vargas HA, Harding JJ, Voss MH, Iyer G, Kwiatkowski DJ*.

Phase II Clinical Trial of Everolimus in a Pan-Cancer Cohort of Patients with mTOR Pathway Alterations.

Clinical Cancer Research, 2021, 27(14):3845-3853.

doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4548

2y-IF₂₀₂₀=12.531; 5y-IF₂₀₂₀=12.836

MNiSW=200, MNiSW₂₀₂₄=200

Liczba cytowań =27 (27 bez autocytowań)

Tabela 1. Dane naukometryczne dotyczące publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego/habilitacyjnego oraz wszystkich moich publikacji (dane z dnia 16.04.2025).

	Osiągnięcie naukowe (n=7 publikacji)	Wszystkie publikacje z <i>Web of Science Core Collection</i> (n=21 publikacji)
2y-IF (5y-IF)	71.0 (75.1)	155.3 (154.9)
2y-IF (5y-IF) / publikację	10.1 (10.7)	7.4 (7.4)
MNISW₂₀₂₄	1180	2920
liczba cytowań (bez autocytowań)	222 (210)	523 (499)
H-index	-	12

2y-IF: sumaryczny, 2-letni Impact Factor z roku poprzedzającego ukazanie się publikacji

5y-IF: sumaryczny, 5-letni Impact Factor z roku poprzedzającego ukazanie się publikacji

2y-IF (5y-IF) / publikację: średnie wartości wskaźników Impact Factor na publikację

MNISW₂₀₂₄: sumaryczna liczba punktów MNISW zgodnie z najnowszą listą opublikowaną 5.01.2024

Liczba cytowań (bez autocytowań): całkowite liczby cytowań (wg Web of Science), z dnia: 16.04.2025

4.3. Omówienie osiągnięcia naukowego

Moje osiągnięcie naukowe/habilitacyjne pt. *‘Germinalne i somatyczne mutacje utraty funkcji w genach TSC1 i TSC2 – rola w nowotworzeniu oraz związek z fenotypem człowieka’* obejmuje cykl 7 publikacji, w tym 6 publikacji podsumowujących wyniki badań oryginalnych, oraz 1 publikację przeglądową.

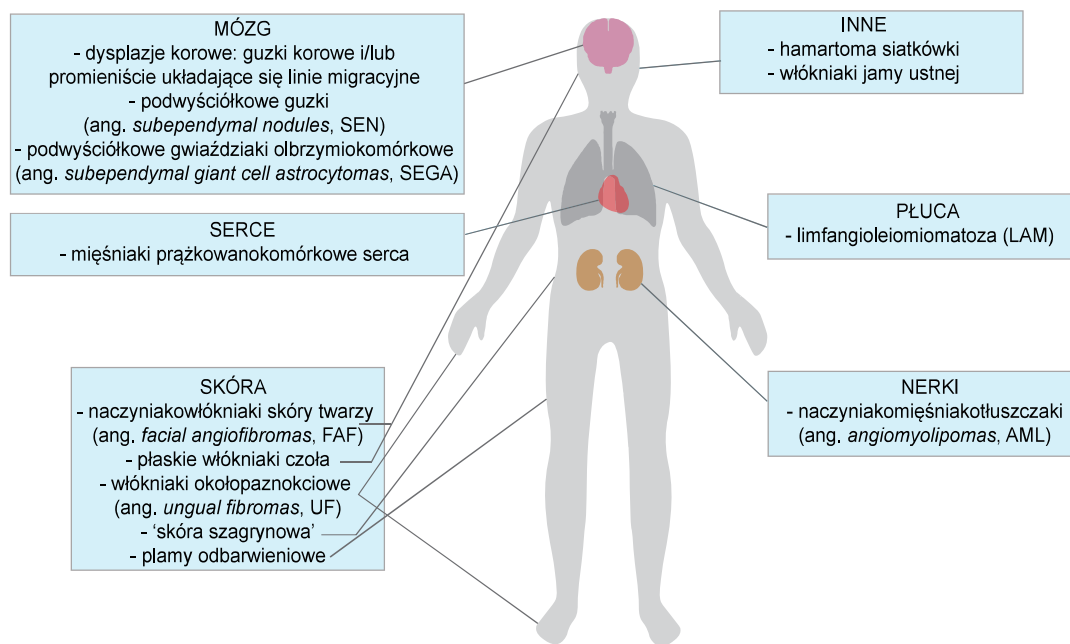
Wszystkie prace wchodzące w niniejszy cykl powstały w latach 2019-2023, podczas mojego długoterminowego 5-letniego stażu podoktorskiego w Brigham and Women’s Hospital i Harvard Medical School w Bostonie, w grupie badawczej Dr David’a Kwiatkowskiego, wiodącego eksperta w genetyce stwardnienia guzowatego (ang. *Tuberous Sclerosis Complex*, TSC) i genetyce nowotworów (członek Broad Institute of MIT and Harvard; jeden z liderów programu The Cancer Genome Atlas Project (TCGA); lider programu Cancer Genetics w Dana-Farber/Harvard Cancer Center).

Prace naukowe wchodzące w skład mojego osiągnięcia zostały opublikowane w rozpoznawalnych prestiżowych czasopismach w dziedzinie genetyki człowieka, w tym 4 z 7 niniejszych publikacji w czasopismach z 5-letnim wskaźnikiem oddziaływania (ang. *Impact Factor*, IF) o wartości >10 oraz maksymalną punktacją MNISW (=200 punktów). Średnia wartość 5-letniego wskaźnika IF na publikację z cyklu wyniosła 10.7. W 4 z 7 przedstawionych publikacji jestem pierwszym autorem, w tym w 2 dodatkowo autorem korespondencyjnym. 3 prace z niniejszego cyklu powstały w ramach kierowanego przez mnie grantu *Postdoctoral Fellowship Grant Award 2020* finansowanego przez *TSC Alliance* (Maryland, USA), który uzyskałam i zrealizowałam podczas mojego stażu podoktorskiego w Bostonie.

4.3.1. Wprowadzenie

Moje badania wchodzące w skład osiągnięcia naukowego koncentrowały się głównie na zgłębianiu nowych aspektów genetycznej patogenezy TSC.

TSC to dziedziczny autosomalnie dominujący zespół występujący z częstością $\sim 1/6000$ w populacji ogólnej, związany z wariantami* utraty funkcji w genach supresorowych *TSC1* i *TSC2*. TSC charakteryzuje się występowaniem guzów/zmian (ang. *lesions*) w wielu narządach, w tym w mózgu, sercu, skórze, płucach oraz nerkach (Crino, 2006; Henske, 2016; Salussolia, 2019) (Rycina 1).



Rycina 1. Guzy/zmiany chorobowe występujące w różnych organach u pacjentów z TSC.

Badania przeprowadzone w laboratorium Dr David'a Kwiatkowskiego wykazały, że mozaikowość genetyczna to relatywnie częste zjawisko u osób z TSC (Tyburczy, 2015; Giannikou, 2019; Treichel, 2019). U osób z mozaikowością obserwuje się występowanie populacji komórek o różnym genotypie. Mozaikowość w TSC występuje w wyniku wariantu postzygotycznego w *TSC1* lub *TSC2*, którego rezultatem jest klonalna populacja komórek z wariantem, zmieszana z większą populacją komórek bez wariantu.

* Warto wspomnieć, że w dziedzinie genetyki istnieją różnorodne standardy i zwyczaje w nazewnictwie zmian w sekwencji DNA. W literaturze w dziedzinie genetyki człowieka, termin 'wariant' jest często stosowany w kontekście zmian germinalnych w sekwencji DNA, natomiast termin 'mutacja' w kontekście zmian somatycznych. W związku z powyższym, w moim autoreferacie postanowiłam (i) używać terminu 'wariant' w opisie zmian germinalnych, a także zmian o charakterze mozaikowym występujących systemicznie, tj. we krwi i/lub innych płynach ustrojowych/tkankach (które, podobnie jak zmiany germinalne, pełnią funkcję zmian 'pierwszego uderzenia' w patogenezie TSC, w odniesieniu do modelu Knudsona), oraz (ii) używać terminu 'mutacja' w kontekście zmian somatycznych (w tym w kontekście zmian 'drugiego uderzenia' w TSC oraz somatycznych zmian w nowotworach sporadycznych i innych tkankach u osób bez TSC).

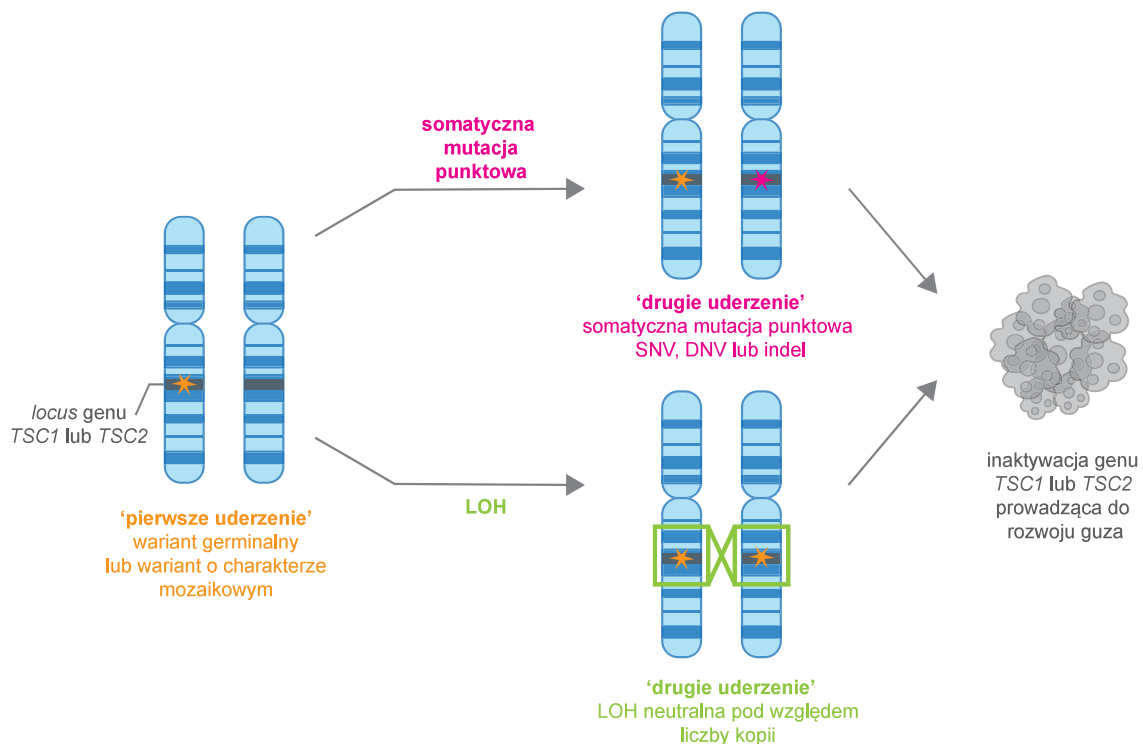
Mozaikowość w TSC może występować w postaci systemicznej (ang. *generalized mosaicism* lub *systemic mosaicism*), tj. we krwi i/lub innych płynach ustrojowych/tkankach, lub w postaci ograniczonej do pojedynczej tkanki/organu (ang. *restricted mosaicism*). Analizy sekwencjonowania nowej generacji (ang. *Next Generation Sequencing* (NGS) lub *Massively Parallel Sequencing* (MPS))** prowadzone w laboratorium Dr Kwiatkowskiego wykazały, że systemiczna mozaikowość obserwowana jest u 10-15% osób z TSC i występuje szczególnie często wśród pacjentów, u których patogenny wariant w genach *TSC1/TSC2* nie został wcześniej wykryty w ramach rutynowej analizy genetycznej w laboratoriach diagnostycznych (Giannikou, 2019).

Dalsze kompleksowe rozpoznanie mozaikowości w TSC, w tym przeprowadzenie analizy spektrum wariantów o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2* w różnych tkankach ‘normalnych’ oraz guzach u pacjentów z TSC, wraz z analizą ich wpływu na fenotyp, pozwoliłoby na dostarczenie ważnego kompendium wiedzy na temat mozaikowości dla pacjentów z TSC.

Patogeneza guzów występujących jako objaw kliniczny TSC jest zgodna z ‘teorią dwóch uderzeń’ Knudsona (Knudson, 1971), gdzie po inaktywacji jednego allelu genu *TSC1* lub *TSC2* (‘pierwsze uderzenie’: wariant germinalny (częstość allelu wariantu=50%) lub wariant o charakterze mozaikowym) następuje somatyczne ‘drugie uderzenie’ w komórkach guza, które inaktywuje drugi allel tego samego genu, prowadząc do aktywacji kompleksu ssaczego celu rapamycyny 1 (ang. *mammalian target of rapamycin complex 1*, mTORC1). ‘Drugie uderzenie’ w genach *TSC1* i *TSC2* następuje na skutek różnych mechanizmów genetycznych, specyficznych dla guzów w poszczególnych narządach/częściach ciała. Wśród mechanizmów ‘drugiego uderzenia’ występujących w guzach TSC można wymienić: (i) utratę heterozygotyczności neutralną pod względem liczby kopii (ang. *copy-neutral loss of heterozygosity*, cnLOH), czyli wymianę ‘normalnego’ allelu genu i otaczającego regionu na chromosomie na skutek disomii jednorodzicielskiej lub konwersji genowej i (ii) mutacje punktowe, w tym substytucje pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide variants*, SNVs), substytucje podwójnych nukleotydów (ang. *dinucleotide variants*, DNVs) oraz 1-kilkunastonukleotydowe insercje i delecje (ang. *indels*) (**Rycina 2**). Przeprowadzone wcześniej analizy wykazały, że dominującym mechanizmem ‘drugiego uderzenia’ w guzach mózgu SEGA oraz guzach AML w nerkach jest cnLOH (Henske, 1995; Henske, 1996; Au, 1999; Niida, 2001; Giannikou, 2016; Giannikou, 2021). Analiza mechanizmów drugiego uderzenia w niektórych guzach związanych z TSC, w tym w guzach skóry, stanowi duże wyzwanie ze względu na niewielką zawartość komórek guza w biopsjach. Niewielka frakcja komórek guza sprawia, że obserwowane mutacje ‘drugiego uderzenia’ występują z bardzo niską częstością alleliczną, często znacznie poniżej 2% (Tyburczy, 2014; Tyburczy, 2015; Giannikou, 2019; Treichel, 2019). Wskazuje to na potrzebę

**Terminy *Next Generation Sequencing* (NGS) oraz *Massively Parallel Sequencing* (MPS) można uznać za jednoznaczne, stosowane wymiennie w anglojęzycznej literaturze w dziedzinie genetyki. W publikacjach wchodzących w skład mojego osiągnięcia, jak i w dalszej części autoreferatu, będę używać terminu MPS.

zastosowania ultraczułej metody MPS w celu kompleksowego rozpoznania spektrum i częstości mutacji somatycznych drugiego uderzenia w biopsjach guzów z niską zawartością komórek guza u osób z TSC.



Rycina 2. Mechanizmy genetyczne prowadzące do rozwoju guzów często obserwowane u pacjentów z TSC. Skróty: LOH – utrata heterozygotyczności (ang. *loss of heterozygosity*); SNV – substytucje pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide variants*); DNV – substytucje podwójnych nukleotydów (ang. *dinucleotide variants*); indel – punktowe insercje/delecje.

Somatyczne mutacje utraty funkcji w genach *TSC1* i *TSC2*, prowadzące do aktywacji kompleksu mTORC1 pełniącego kluczową rolę w regulacji wzrostu i podziałów komórkowych, obserwowane są nie tylko w guzach u pacjentów z TSC, lecz także w wielu typach guzów nowotworowych. Somatyczne mutacje w genie *TSC1* są szczególnie często obserwowane w raku pęcherza (6%), natomiast somatyczne mutacje w genie *TSC2* występują najczęściej w mięsaku macicy (5%). Somatyczne mutacje w obu genach są również relatywnie często obserwowane w raku nerkowokomórkowym (ang. *Renal Cell Carcinoma*, RCC) (*TSC1* - 5%, *TSC2* - 3%) (<https://www.oncokb.org/gene/TSC1>; <https://www.oncokb.org/gene/TSC2> (Chakravarty, 2017; Zehir, 2017; Suehnholz, 2024)).

Istnieją wskazania, że terapia everolimusem może mieć korzystne efekty u pacjentów z nowotworami z mutacjami somatycznymi utraty funkcji w genach *TSC1/TSC2*. Everolimus to pochodna rapamycyny o działaniu opierającym się na allosterycznej inhibicji kompleksu mTORC1, która została zatwierdzona przez Agencję Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) w leczeniu RCC (Hudes, 2007), guzów neuroendokrynnych trzustki (Yao, 2011), oraz hormono-dodatniego raka piersi HER-2-ujemnego u kobiet po menopauzie (Baselga, 2012), jak również guzów występujących u pacjentów z TSC (Bissler, 2013; Franz, 2013; Kwiatkowski, 2015). W badaniu wykazującym potencjalny efekt terapii everolimusem u

pacjentów z rakiem pęcherza, przeprowadzonym przez Gopa Iyer i współpracowników z Memorial Sloan Kettering Cancer Center w Nowym Jorku, wskazano, że pacjent z zaawansowanym rakiem pęcherza z mutacjami somatycznymi w genach *TSC1* i *NF2* wykazał trwałą (>2 lata), całkowitą odpowiedź (ang. *complete response*) na terapię everolimusem (Iyer, 2012). Opublikowano również kilka innych, pojedynczych przypadków bardzo dobrej odpowiedzi na terapię everolimusem u pacjentów z nowotworami z mutacjami somatycznymi w genach *TSC1/TSC2* (Wagle, 2014; Kwiatkowski, 2015; Alsidawi, 2018).

Niniejsze obserwacje wskazały na potrzebę przeprowadzenia systematycznej oceny efektywności terapii everolimusem wśród pacjentów z nowotworami różnych typów, z mutacjami somatycznymi utraty funkcji w genach *TSC1/TSC2*.

4.3.2. Motywacja i cel badań

Ogólnym celem badań wchodzących w skład mojego osiągnięcia naukowego było scharakteryzowanie germinalnych i somatycznych wariantów/mutacji utraty funkcji w genach *TSC1* i *TSC2* u pacjentów z TSC i pacjentów z różnymi typami nowotworów oraz określenie ich związku z fenotypem.

Powyższy cel realizowałam w ramach następujących celów szczegółowych:

- Kompleksowa analiza wariantów germinalnych i wariantów o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2* u pacjentów z TSC oraz określenie ich związku z fenotypem (H1, H2, H3, H4).
- Opracowanie i optymalizacja ultraczułej metody MPS oraz zastosowanie jej do charakterystyki spektrum somatycznych mutacji w genie *TSC2* o niskiej częstości allelicznej w guzach związanych z TSC (H5, H6).
- Analiza eksomu w badaniu klinicznym terapii everolimusem u pacjentów z różnymi typami nowotworów z mutacjami w genach *TSC1/TSC2* (H7).

4.3.3. Omówienie osiągniętych wyników

- **Kompleksowa analiza wariantów germinalnych i wariantów o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2* u pacjentów z TSC oraz określenie ich związku z fenotypem (H1, H2, H3, H4).**

Pracę nad moim osiągnięciem naukowym rozpoczęłam od przeglądu literatury w tematyce podłoża genetycznego TSC. W ramach mojego pierwszego projektu podjętego w trakcie stażu podoktorskiego w laboratorium Dr David'a Kwiatkowskiego w Bostonie, brałam udział w przygotowaniu pracy o charakterze systematycznego przeglądu (ang. *systematic review*) we współpracy z Dr Mustafą Sahin, wiodącym ekspertem w dziedzinie neurologii molekularnej TSC z Boston Children's Hospital i Harvard Medical School (publikacja H1).

W ramach przygotowania niniejszej pracy, zgromadziłam i opisałam doniesienia naukowe dotyczące zagadnień związanych z genetyką kliniczną TSC, które stały się przedmiotem

późniejszych analiz eksperymentalnych wchodzących w skład mojego osiągnięcia naukowego (**H1**: str. 222-226). Między innymi, przeprowadziłam analizę spektrum i częstości wariantów patogennych w genach *TSC1* i *TSC2* w populacji ogólnej pacjentów z TSC, korzystając z danych zgromadzonych w publicznie dostępnej bazie danych Leiden Open Variation Database (LOVD) (Fokkema, 2011). Zawartość i adnotacja bazy LOVD poświęconej wariantom w genach *TSC1/TSC2* u osób z TSC stanowi znakomite źródło wiedzy dla społeczności pacjentów, lekarzy i naukowców w dziedzinie TSC. Wyniki mojej analizy z użyciem danych z bazy LOVD podsumowałam na schematach stanowiących mapy wariantów germinalnych, wizualizujące częstość i rozmieszczenie wariantów patogennych typu SNV i indel, w genach *TSC1* (**H1**: 'Figure 2') oraz *TSC2* (**H1**: 'Figure 3'). Mapy wariantów w genach *TSC1* i *TSC2* wykorzystywałam później wielokrotnie jako referencję w moich pracach eksperymentalnych, w tym w badaniach podsumowanych w publikacjach **H2** oraz **H5** wchodzących w skład mojego osiągnięcia naukowego.

W ramach rozszerzenia moich zainteresowań zmiennością genetyczną w genach *TSC1/TSC2*, moja praca eksperymentalna skoncentrowała się na kompleksowej analizie mozaikowości w genach *TSC1/TSC2* u 95 pacjentów z TSC. Projekt ten podsumowałam w pracy opublikowanej w jednym z najbardziej prestiżowych czasopism w dziedzinie genetyki człowieka, *American Journal of Human Genetics* (5y-IF₂₀₂₂=11.8) (publikacja **H2**), w której jestem autorem zarówno pierwszym jak i korespondencyjnym. Badanie zostało w dużej części wykonane w ramach realizacji kierowanego przeze mnie grantu finansowanego przez *TSC Alliance*.

Niniejsza analiza była jednym z pierwszych projektów eksperymentalnych podjętych w ramach mojego osiągnięcia naukowego i była prowadzona przez cały okres trwania mojego 5-letniego stażu podoktorskiego w laboratorium Dr David'a Kwiatkowskiego (2018-2023). Projekt ten wymagał dużego zaangażowania, między innymi ze względu na potrzebę zebrania reprezentatywnej grupy unikatowych próbek pochodzących od osób z TSC z podejrzeniem mozaikowości. Niniejsze próbki kolekcjonowane były od osób z TSC u których patogenny wariant w genach *TSC1/TSC2* nie został wykryty w ramach przeprowadzonej wcześniej rutynowej analizy genetycznej w laboratoriach diagnostycznych, wykonanej zazwyczaj z zastosowaniem metod o ograniczonej czułości (takich jak sekwencjonowania Sangera czy MPS o niskiej głębokości pokrycia). Projekt prowadzony był we współpracy z ekspertami w dziedzinie TSC, dermatologami, Dr Joannes Grevelink (Massachusetts General Hospital, Boston, USA) i Dr Thomas Darling (Uniformed Services University, Bethesda, USA) oraz neurologami, prof. Katarzyną Kotulską oraz prof. Sergiuszem Jóźwiakiem (Instytut 'Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka' w Warszawie).

W niniejszym projekcie przeprowadziłam szeroko zakrojoną analizę MPS 330 próbek DNA pochodzących z wielu różnych tkanek i płynów ustrojowych (np. skóra, ślina, krew, nasienie) oraz różnych guzów związanych z TSC pochodzących od 95 pacjentów z TSC z mozaikowością (**H2**: 'Graphical abstract' oraz 'Figure 1'). Guzy skóry twarzy FAF były guzami najczęściej uwzględnianymi w niniejszej analizie, ze względu na największą dostępność i relatywną

łatwość pobrania biopsji. Badanie to obejmowało analizę genetyczną największej jak dotąd grupy pacjentów z mozaikowością TSC, w tym jednocześnie grupę większą niż analizowane do tej pory grupy pacjentów z mozaikowością w jakimkolwiek zespole dziedzicznym predysponującym do występowania guzów związanych z inaktywacją genów supresorowych (ang. *Tumor Suppressor Syndromes*).

W projekcie tym zastosowaliśmy strategię MPS o wysokiej głębokości pokrycia pełnej sekwencji (egzonów i intronów) genów *TSC1* i *TSC2*. Sekwencjonowanie z medianą głębokości pokrycia co najmniej 500x zostało zastosowane do analizy kilku (od 1 do 5) próbek pochodzących od danego pacjenta. Następnie, patogenny wariant utraty funkcji w genie *TSC1* lub *TSC2* zidentyfikowany u danego pacjenta poddawany był walidacji, głównie z zastosowaniem sekwencjonowania typu 'amplikon MPS' o bardzo wysokiej medianie głębokości pokrycia (100000x), z wykorzystaniem wszystkich próbek DNA 'normalnych' oraz guzów dostępnych dla danego pacjenta (**H2**: 'Figure 1'). Analizę wyników przeprowadziłam z zastosowaniem opracowanej przez nas bioinformatycznej metody analizy pozwalającej na wykrycie wariantów o niskiej częstości poniżej 1%, a także 'dużych' (wieloksonowych) delecji oraz rzadkich, złożonych rearanżacji genomu.

Patogenne systemiczne warianty o charakterze mozaikowym w genie *TSC2* zostały zidentyfikowane u 91% analizowanych pacjentów, natomiast w genie *TSC1* u pozostałych 9%. Rozkład ten różni się od rozkładu wariantów germinalnych obserwowanych w populacji ogólnej pacjentów z TSC (dane z bazy LOVD (**H1**)), w której warianty w *TSC1* występują znacznie częściej i obserwowane są u 26% pacjentów (**H2**: 'Figure 2A'). Rozmieszczenie lokalizacji systemicznych wariantów o charakterze mozaikowym w sekwencji genów *TSC1* i *TSC2* było bardzo podobne do rozmieszczenia germinalnych wariantów w niniejszych genach u pacjentów z TSC (**H2**: 'Figure 2B-C').

W ramach projektu przeprowadziłam kompleksową analizę częstości allelicznej systemicznych wariantów o charakterze mozaikowym w sparowanych (pochodzących od tego samego pacjenta) próbkach z różnych tkanek 'normalnych'/płynów ustrojowych i guzów (**H2**: 'Figure 3A' i 'Figure S1A'). Analiza ta wykazała, że częstość alleliczna wariantów w guzach skóry FAF była znacząco wyższa niż częstość alleliczna wariantów w sparowanych próbkach skóry normalnej i krwi co sugeruje, że uwzględnienie próbki z FAF w analizach prowadzonych w laboratoriach diagnostycznych może ułatwić identyfikację wariantów o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2*. Zaobserwowana mediana częstości allelicznej systemicznych wariantów o charakterze mozaikowym we krwi wyniosła zaledwie ~3%; jest to wartość znacznie niższa niż minimalna częstość alleliczna wariantów raportowana przez większość laboratoriów diagnostycznych (tj. ~10-15%) co może prowadzić do pominięcia większości wariantów *TSC1/TSC2* o charakterze mozaikowym w TSC, przy zastosowaniu standardowych testów genetycznych w niniejszych laboratoriach. Ponadto, przeprowadzona przeze mnie analiza wykazała, że u niemalże 20% analizowanych pacjentów TSC z mozaikowością, systemiczny wariant o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2* nie

występuje we krwi, co wskazuje na potrzebę analizy wielu próbek z różnych tkanek i guzów w celu jego wykrycia (**H2**: 'Figure S2').

Analiza wykazała również, że częstość alleliczna systemicznych wariantów o charakterze mozaikowym jest znacząco wyższa w genie *TSC1* niż w genie *TSC2*, zarówno we krwi i ślinie, jak i w próbkach pochodzących z guzów FAF. Jest to zgodne z opisywaną w literaturze obserwacją, że fenotyp (tj. liczba i dotkliwość objawów klinicznych związanych z TSC) u pacjentów z germinalnym wariantem w genie *TSC1* jest łagodniejszy niż u pacjentów z germinalnym wariantem w genie *TSC2* (Dabora, 2001). W świetle tej obserwacji, nasze wyniki mogą sugerować, że aby zaobserwować objawy kliniczne spełniające kryteria diagnostyczne TSC potrzebna jest wyższa częstość alleliczna wariantu mozaikowego w genie *TSC1* niż w genie *TSC2*. W rezultacie, znaczna część osób z niskim poziomem mozaikowości w genie *TSC1* (częstość alleliczna mutacji < 3% we krwi/ślinie) może nie zostać zdiagnozowana ze względu na bardzo łagodne objawy kliniczne, nie spełniające kryteriów diagnostycznych TSC.

W kolejnym etapie projektu przeprowadziłam kompleksową analizę typu genotyp-fenotyp, aby porównać spektrum i liczbę obserwowanych objawów klinicznych u pacjentów z TSC z mozaikowością w genach *TSC1* i *TSC2*. Co ciekawe, zaobserwowałam pozytywną korelację pomiędzy liczbą objawów klinicznych związanych z TSC oraz częstością alleliczną wariantów mozaikowych w krwi i/lub ślinie, w genach *TSC1* oraz *TSC2* (**H2**: 'Figure 4'). Dodatkowo, analiza wykazała, że liczba obserwowanych objawów klinicznych TSC występujących w różnych organach, w tym skórze, mózgu, nerkach i płucach, jest podobna u osób z mozaikowością w genach *TSC1* i *TSC2* (**H2**: 'Figure S3', 'Table S2').

Dodatkowo, porównałam fenotyp (tj. częstości występowania 14 różnych objawów klinicznych TSC) (i) u pacjentów z wariantem *TSC1/TSC2* o charakterze mozaikowym oraz (ii) u pacjentów z wariantem heterozygotycznym germinalnym (częstość alleliczna=50%) w genach *TSC1/TSC2*, z wykorzystaniem dwóch niezależnych grup z wariantami heterozygotycznymi germinalnymi, w tym grupą scharakteryzowaną w naszym laboratorium (n=39 pacjentów) oraz grupą scharakteryzowaną w ramach Natural History Database prowadzonej przez stowarzyszenie *TSC Alliance* (n=272 pacjentów). Analiza wykazała istotne różnice, w tym (i) rzadsze występowanie większości (12 z 14) objawów klinicznych w grupie pacjentów z mozaikowością, oraz (ii) znacząco częstsze występowanie 2 objawów, w tym guzów FAF i AML, u pacjentów z mozaikowością, w porównaniu z grupą pacjentów z wariantami heterozygotycznymi germinalnymi z Natural History Database (**H2**: 'Figure 5').

W niniejszym projekcie zidentyfikowałam również 11 nowych wariantów, nieraportowanych wcześniej w bazie LOVD, w tym ciekawy przypadek dużej inwersji (221kb) obejmującej część genu *TSC2*, wykrytej w próbce pochodzącej z płynu owodniowego.

Podsumowując, przeprowadzona analiza znacząco wzbogaca obecną wiedzę na temat spektrum i częstości wariantów o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2* oraz cech klinicznych u pacjentów TSC z mozaikowością. Otrzymane wyniki wskazują, że w analizach

mozaikowości w TSC istnieje potrzeba (i) zastosowania strategii analizy MPS o bardzo wysokiej głębokości pokrycia (>500X) pełnej sekwencji genów *TSC1/TSC2* oraz (ii) zastosowania wyspecjalizowanej bioinformatycznej metody analizy pozwalającej na wykrycie wariantów o niskiej częstości oraz rzadkich, złożonych rearanżacji genomu, których nie wykrywa się z zastosowaniem standardowego sekwencjonowania eksomu lub genomu o niskiej głębokości pokrycia. Wyniki projektu są również bardzo istotne w kontekście innych chorób genetycznych człowieka, w tym w kontekście rozpoznania zjawiska mozaikowości w innych syndromach związanych z inaktywacją genów supresorowych, w których mozaikowość nie jest jeszcze dostatecznie poznana, między innymi ze względu na ograniczoną liczbę dostępnych próbek z różnych tkanek pacjentów oraz ograniczenia metodologiczne (Chen, 2022).

Z grupy pacjentów z podejrzeniem mozaikowości TSC, których próbki wykorzystałam do analizy MPS podczas mojego stażu post-doc w Bostonie, wyodrębniłam przypadek pacjentki, dla której otrzymaliśmy szczególnie ciekawe wyniki genetyczne. Otrzymane wyniki stały się przedmiotem odrębnej publikacji typu *case report* wchodzącej w skład mojego osiągnięcia naukowego, w której pełnię rolę pierwszego autora (publikacja **H3** w czasopiśmie *Journal of Medical Genetics*, 5y-IF₂₀₂₂=6.451). Publikacja ta powstała w ramach realizacji kierowanego przeze mnie grantu finansowanego przez *TSC Alliance*.

W niniejszej pracy opisałam pacjentkę o łagodnym fenotypie TSC, u której patogenne warianty w genach *TSC1/TSC2* nie zostały zidentyfikowane w ramach wcześniej przeprowadzonych, rutynowych badań genetycznych w laboratorium klinicznym. Dwie próbki pochodzące od pacjentki, w tym z guza skóry FAF oraz z guza nerki AML, poddałam analizie MPS pełnej sekwencji (egzonów i intronów) genów *TSC1* i *TSC2*, o wysokiej głębokości pokrycia (średnie pokrycie >700x). Następnie wszystkie próbki pochodzące od pacjentki (w tym z FAF, AML a także z płynów ustrojowych/tkanek ‘normalnych’ takich jak krew, ślina czy skóra ‘normalna’), włączyłam do analizy walidacyjnej z zastosowaniem metody ‘amplikon MPS’ (średnie pokrycie >19000x). Przeprowadzona analiza MPS doprowadziła do identyfikacji czterech różnych mutacji utraty funkcji w genie *TSC2*, stanowiących dwie różne pary mutacji w analizowanych guzach FAF i AML, prowadzące do niezależnej inaktywacji obu alleli genu *TSC2* w poszczególnych guzach (**H3**: ‘Figure 1C’ oraz ‘Table 1’). Żadna ze zidentyfikowanych mutacji nie została wykryta w próbkach ‘normalnych’ pochodzących od pacjentki. Otrzymane wyniki wskazują, że niniejsze dwa guzy (FAF i AML) nie wystąpiły w wyniku wspólnego wariantu germinalnego lub systemicznego wariantu o charakterze mozaikowym, a raczej mają charakter sporadyczny, tj. nie są związane z zespołem TSC. Biorąc pod uwagę częstość występowania sporadycznych AML (~0.1-0.2%) (Fujii, 1995; Flum, 2016) oraz FAF (8%) (Asgharian, 2004) w populacji ogólnej, można oszacować, że współwystępowanie sporadycznych guzów FAF i AML u jednej osoby obserwuje się z częstością jedynie około 1/10000.

Podsumowując, jest to niezwykle rzadka sytuacja, której do tej pory nie miałam okazji zaobserwować nawet w ramach analiz przeprowadzonych w grupie ponad 100 pacjentów z fenotypem charakterystycznym dla mozaikowej postaci TSC. Zaprezentowany przypadek pokazuje jak duże znaczenie ma dokładne badanie kliniczne, szeroko zakrojona analiza MPS o wysokim pokryciu różnych guzów i sparowanych próbek ‘normalnych’ oraz odpowiednie konsultacje genetyczne dla osób z łagodnym fenotypem TSC oraz możliwą mozaikowością w genach *TSC1/TSC2*.

Analizę wariantów w genach *TSC1* i *TSC2* u pacjentów z TSC prowadziłam również w ramach innego spójnego tematycznie projektu wchodzącego w skład mojego osiągnięcia naukowego, który został podsumowany w pracy opublikowanej w *Genetics in Medicine* (5y-IF₂₀₁₉=10.435), tj. oficjalnym czasopiśmie prestiżowego towarzystwa *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (publikacja H4). W niniejszym projekcie brałam udział również podczas mojego stażu podoktorskiego w Bostonie. Został on przeprowadzony w międzynarodowej, wielośrodkowej współpracy wiodących instytucji naukowych z Polski, Niemiec, Holandii, Wielkiej Brytanii, Włoch, Austrii, Belgii, Czech, Australii i Stanów Zjednoczonych, w ramach realizacji projektu EPISTOP (7.Program Ramowy Unii Europejskiej, kierownik projektu: prof. Sergiusz Jóźwiak, Instytut ‘Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka’ w Warszawie). Przedmiotem projektu była kompleksowa analiza wariantów w genach *TSC1* i *TSC2* oraz badanie typu genotyp-fenotyp w grupie 94 dzieci z TSC. Wyniki otrzymane w projekcie wykazały, że warianty utraty funkcji w *TSC2* są związane z bardziej dotkliwym fenotypem niż warianty w genie *TSC1* u dzieci z TSC (H4: ‘Fig.2’) i stanowią ważne źródło wiedzy dotyczącej różnic w obserwowanych cechach klinicznych u pacjentów z wariantami w genach *TSC1/TSC2*. Pragnę podkreślić, że w niniejszym artykule wystąpiłam jako czwarty autor i byłam odpowiedzialna jedynie za część analiz przeprowadzonych w projekcie, tj., analizę dużych delecji z użyciem metody multipleksowej zależnej od ligacji amplifikacji sond (ang. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*, MLPA). Wyniki moich analiz zostały podsumowane w H4: ‘Supplementary Figure S2’. W niniejszej analizie miałam okazję wykorzystać moją głęboką ekspertyzę w pracy eksperymentalnej z zastosowaniem metody MLPA oraz w analizie i interpretacji wyników MLPA, którą rozwinęłam wcześniej, w trakcie przygotowania pracy doktorskiej. Dodatkowo, byłam zaangażowana w przygotowanie tekstu i edycję manuskryptu.

- **Opracowanie i optymalizacja ultraczułej metody MPS oraz zastosowanie jej do charakterystyki spektrum somatycznych mutacji w genie *TSC2* o niskiej częstości w guzach związanych z TSC (H5, H6).**

Oprócz charakterystyki wariantów germinalnych i wariantów o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2* u pacjentów z TSC, w badaniach wchodzących w skład mojego osiągnięcia naukowego skoncentrowałam się także na analizie mutacji somatycznych ‘drugiego uderzenia’ w genie *TSC2* w guzach związanych z TSC.

Analiza mutacji ‘drugiego uderzenia’ w niektórych guzach związanych z TSC, w tym w naczyńiakowłókniakach skóry twarzy (ang. *facial angiofibroma*, FAF), stanowi duże wyzwanie

ze względu na niewielką zawartość komórek guza w biopsjach. Biopsja FAF (średnia średnica biopsji ~2mm) składa się z niewielkiej frakcji komórek guza FAF, tj. fibroblastów z inaktywacją genów *TSC1/TSC2*, które występują w skórze właściwej w otoczeniu licznych komórek ‘normalnych’, w tym komórek zapalnych i naczyń krwionośnych, oraz keranocytów występujących w okrywającym naskórku. W związku z niską zawartością komórek guzów FAF w biopsjach, obserwowane mutacje ‘drugiego uderzenia’ występują z bardzo niską częstością alleliczną, często znacznie poniżej 2% (Tyburczy, 2014; Tyburczy, 2015; Giannikou, 2019; Treichel, 2019).

Standardowe metody powszechnie stosowane w analizach genetycznych mają ograniczoną czułość. Jednym z przykładów jest metoda sekwencjonowania Sangera, która nie pozwala na wykrycie mutacji z częstością alleliczną <10%. Kolejny przykład stanowi standardowa metoda sekwencjonowania MPS przy zastosowaniu której detekcja mutacji o niskiej częstości allelicznej (<1%) stanowi wyzwanie ze względu na wysoki poziom błędów sekwencjonowania. Wskazuje to na potrzebę zastosowania ultraczułej metody MPS w celu kompleksowej analizy mutacji somatycznych ‘drugiego uderzenia’ w FAF i potencjalnie w biopsjach innych guzów z niską zawartością komórek guza u osób z TSC.

W związku z powyższym, w niniejszym projekcie opracowałam nową ultraczułą strategię Multiplex High-sensitivity PCR Amplification (MHPA) oraz zastosowałam ją do analizy mutacji somatycznych w genie *TSC2* w guzach skóry FAF u pacjentów z TSC. Projekt ten przeprowadziłam w trakcie mojego stażu podoktorskiego w Bostonie, w ramach realizacji kierowanego przeze mnie grantu finansowanego przez *TSC Alliance*. Projekt prowadzony był we współpracy z ekspertami w dziedzinie TSC, dermatologami, Dr Joannes Grevelink (Massachusetts General Hospital, Boston, USA) oraz Dr Thomas Darling (Uniformed Services University, Bethesda, USA). Wyniki projektu podsumowałam w publikacji w renomowanym czasopiśmie *Journal of Clinical Investigation* (5y-IF₂₀₂₁=19.232) (publikacja **H5**), w której pełniłam rolę zarówno pierwszego jak i korespondencyjnego autora.

MHPA to metoda sekwencjonowania typu ‘amplikon MPS’, w której stosuje się znakowanie pojedynczych cząsteczek DNA za pomocą unikalnych identyfikatorów molekularnych (ang. *unique molecular identifiers*, UMIs), tj. 14-nukleotydowych segmentów o losowej sekwencji. Znakowanie UMI umożliwia eliminację błędów (‘artefaktów’) powstałych w reakcji PCR podczas przygotowania bibliotek lub podczas sekwencjonowania, oraz wykrywanie mutacji z bardzo niską częstością alleliczną na poziomie 0.01-0.05%. Test MHPA zapewnia 10-krotnie większą czułość wykrywania mutacji, w porównaniu z metodami MPS wcześniej stosowanymi do wykrywania mutacji w TSC (Giannikou, 2019; Treichel, 2019). MHPA umożliwia analizę dowolnych regionów w genomie z zastosowaniem bardzo wysokiej głębokości pokrycia (głębokość pokrycia po kompresji danych z zastosowaniem UMI: ~30,000X). MHPA opiera się na reakcji multiplex PCR, umożliwiającej równoczesną amplifikację wielu wybranych krótkich regionów genomu (amplikonów do ~120 nt) analizowanych w projekcie. Podczas optymalizacji nowo zaprojektowanych testów MHPA, amplikony MHPA znakowane są znacznikiem

fluorescencyjnym FAM, co pozwala ocenić poziom amplifikacji PCR poszczególnych amplikonów za pomocą elektroforezy kapilarnej; umożliwia to zapewnienie amplifikacji poszczególnych regionów genomu na porównywalnym poziomie (H5: 'Figure 1', 'Figure 2A-B').

Z wykorzystaniem wcześniej opracowanej mapy wariantów germinalnych w genie *TSC2* zgromadzonych w bazie LOVD (H1), zaprojektowałam zestaw *TSC2*-MHPA obejmujący 40 par primerów umożliwiających amplifikację krótkich amplikonów, o długości 48-117 nukleotydów (H5: 'Figure 2C', 'Supplemental Table 1.1'). Amplikony *TSC2*-MHPA zlokalizowane są w eksonach oraz w połączeniach ekson-intron genu *TSC2* i obejmują większość (74%) wariantów patogennych w *TSC2* opublikowanych wcześniej w bazie LOVD, w tym wszystkie regiony typu hot-spot. Dodatkowo, opracowałam zestaw MHPA do analizy genu *TP53*, obejmujący 12 par primerów, umożliwiających amplifikację krótkich fragmentów (90-126 nukleotydów) zlokalizowanych w eksonach oraz w połączeniach ekson-intron genu *TP53*. Zestaw *TP53*-MHPA obejmuje wszystkie regiony typu hot-spot oraz 93% somatycznych mutacji niesynonimicznych w genie *TP53*, identyfikowanych w skórze 'normalnej' i nowotworach skóry we wcześniej opublikowanych analizach (H5: 'Supplemental Table 1.2.', 'Supplemental Figure 1'). Gen *TP53* został uwzględniony w niniejszym projekcie jako gen referencyjny, najczęściej mutowany w różnych nowotworach, w tym w nowotworach skóry.

Niniejsze testy MHPA zostały wykorzystane do ultraczułej analizy mutacji somatycznych w zestawie 81 próbek, pochodzących z różnych tkanek (H5: 'Table1'). Analiza *TSC2*-MHPA oraz *TP53*-MHPA została przeprowadzona z wykorzystaniem próbek pochodzących od pacjentów z TSC oraz próbek pochodzących od osób bez TSC (próbki 'non-TSC'); analizowane zestawy próbek obejmowały między innymi (i) panel 24 biopsji pochodzących z guzów skóry FAF od pacjentów z TSC oraz (ii) panel kontrolny 28 biopsji od osób bez TSC, w tym 8 próbek skóry normalnej przylegającej do raka podstawnokomórkowego skóry (ang. *basal cell carcinoma*, BCC) (duża ekspozycja na promieniowanie słoneczne), 10 próbek skóry normalnej z wewnętrznej strony ramienia (ograniczona ekspozycja na promieniowanie słoneczne) oraz 10 próbek skóry napletka pochodzących od noworodków (obszar nieeksponowany na słońce).

Analiza *TSC2*-MHPA przeprowadzona w panelu 24 próbek FAF od pacjentów z TSC doprowadziła do identyfikacji 112 mutacji somatycznych typu SNV, DNV i indel, o ekstremalnie niskiej częstości allelicznej (0.01-8%, mediana: 0.08%). Mutacje CC:GG>TT:AA o znanym związku z promieniowaniem UV stanowiły 34 ze 112 (30%) mutacji w genie *TSC2* zidentyfikowanych w FAF. SNV stanowiły 60 ze 112 (54%) mutacji *TSC2*, z czego 51 z 60 (85%) również powstało na skutek promieniowania UV zgodnie z wcześniejszymi wskazaniami w literaturze (w tym 34 mutacje C:G>T:A i 17 mutacji G:C>T:A) (Martincorena, 2015; Bonilla, 2016; Alexandrov, 2020; Fowler, 2021; Wei, 2021). Co ciekawe, niniejsza analiza doprowadziła do identyfikacji średnio 5 mutacji somatycznych w genie *TSC2*, na biopsję FAF o średnicy zaledwie ~2 mm. Dwie lub więcej mutacji somatycznych w genie *TSC2* zostało zidentyfikowanych w większości analizowanych FAF (19 z 24, 79%), co sugeruje, że większość

z analizowanych biopsji FAF zawierała co najmniej dwa niezależne klony FAF (H5: 'Figure 3A', 'Figure 4', 'Supplemental Table 2.1.').

W przeciwieństwie do biopsji FAF ze skóry twarzy silnie ekspozowanej na słońce, liczba mutacji *TSC2* w próbkach skóry non-TSC z regionów nieekspozowanych na słońce, w tym próbkach skóry normalnej z wewnętrznej strony ramienia oraz próbkach z napletka, była bardzo niska (średnia odpowiednio 0.7 i 0.5 mutacji w genie *TSC2*). Zgodnie z oczekiwaniami, analiza próbek non-TSC z napletka nie doprowadziła do identyfikacji żadnej mutacji CC:GG>TT:AA, a tylko jedną taką mutację zaobserwowano w próbkach non-TSC z ramienia (H5: 'Supplemental Figure 9').

W analizie *TP53*-MHPA zidentyfikowałam średnio 10.1 mutacji w genie *TP53* na analizowaną biopsję FAF (mutacje występujące najprawdopodobniej w keratynocytach). Zaobserwowałam również pozytywną korelację pomiędzy liczbą mutacji *TP53* oraz *TSC2* w poszczególnych analizowanych próbkach FAF, co wskazuje na prawdopodobną rolę UV w generowaniu mutacji w obu genach w niniejszych próbkach (H5: 'Figure 3', 'Supplemental Table 5').

Analiza wzorów mutacji (ang. *mutation signatures*) SNV zidentyfikowanych w genach *TSC2* i *TP53* wskazała, że wzory mutacji obserwowane w FAF oraz w próbkach skóry normalnej non-TSC przylegającej do BCC wykazały duże podobieństwo do referencyjnego wzoru mutacji SBS7b (COSMIC) (Alexandrov, 2020) o znanym związku z promieniowaniem UV, z przewagą substytucji C>T. Obserwowany wzór mutacji DNV wykazał bardzo duże podobieństwo do referencyjnego wzoru DBS-1 generowanego przez promieniowanie UV; substytucje CC:GG>TT:GG stanowiły >90% wszystkich obserwowanych DNV w FAF i próbkach skóry normalnej non-TSC przylegającej do BCC, ekspozowanych na promieniowanie słoneczne (H5: 'Figure 8').

Ponadto, zidentyfikowałam powtarzający się, nowy złożony wzór mutacji w genie *TP53*, składający się zarówno z SNV lub DNV, jak i delecji *in cis*, którego występowanie jest prawdopodobnie związane z promieniowaniem UV (H5: 'Figure 10').

Podsumowując, przeprowadzona analiza MHPA doprowadziła do odkrycia powszechnie występujących mutacji o niskiej częstości allelicznej, generowanych przez promieniowanie UV światła słonecznego w genie *TSC2* w skórze twarzy pacjentów z TSC. Ogromna częstość występowania mutacji somatycznych w skórze twarzy pacjentów z TSC wynika prawdopodobnie z obecności wielu pojedynczych klonów fibroblastów (które nazywamy 'micro-FAF'), które były obecne w niewielkich biopsjach FAF (średnica ~2mm). Wyniki analizy pozwalają oszacować, że w skórze twarzy pacjentów z TSC występują setki tysięcy niezależnych klonalnych proliferacji fibroblastów ('micro-FAF') w wyniku mutacji 'drugiego uderzenia' w genie *TSC2*, z których niewielka część rozwija się w klinicznie obserwowalne zmiany/guzy FAF (H5: 'Figure 7').

W ramach kolejnego projektu, opracowaną metodę MHPA wykorzystałam do ultraczułej analizy mutacji somatycznych w genie *TSC2*, w próbkach pochodzących z naczyniomięśniakotłuszczaków wątroby (ang. *hepatic angiomyolipoma*, hAML). Guzy hAML występują u około 25% pacjentów z TSC, jednak są również obserwowane w postaci sporadycznej w populacji ogólnej (Black, 2012; Jozwiak, 2018). Ogólnym celem projektu była analiza podłoża genetycznego oraz mikrośrodowiska sporadycznych guzów hAML. Niniejszy projekt przeprowadziłam w trakcie mojego stażu podoktorskiego w Bostonie. Wyniki projektu zostały podsumowane w publikacji w czasopiśmie *Histopathology* (5y-IF₂₀₂₂= 5.1) (publikacja **H6**), w którym pełniłam rolę jednego z głównych autorów artykułu (2 pozycja wśród współautorów). Graficzny abstrakt naszego artykułu został doceniony przez edytorów i zamieszczony na okładce czasopisma *Histopathology* (vol.83, no.4, 2023).

W ramach projektu, po raz pierwszy przeprowadzono kompleksową analizę podłoża genetycznego sporadycznych guzów hAML. W projekcie zastosowano strategię analizy sekwencjonowania całego eksomu w celu rozpoznania spektrum mutacji somatycznych w hAML. Moją rolą w ramach niniejszego projektu było zastosowanie strategii głębokiego, ultraczułego sekwencjonowania MHPA w celu scharakteryzowania mutacji w genie *TSC2* w hAML. Analiza genetyczna z zastosowaniem sekwencjonowania całego eksomu oraz MHPA wykazała obecność somatycznych mutacji utraty funkcji w genie *TSC2* w 10 z 12 (83%) analizowanych przypadków hAML (mediana częstości allelicznej: 13.6%) (**H6**: 'Table S4'). Analiza sekwencjonowania całego eksomu wykazała niską częstość występowania mutacji w genach innych niż *TSC1/TSC2*, tj. 5-18 mutacji somatycznych na analizowaną próbkę (mediana: 9; mediana częstości allelicznej mutacji: 21%), w przeważającej części o nieznanym statusie patogenności (ang. *variants of unknown significance*, VUS).

- **Analiza eksomu w badaniu klinicznym terapii everolimusem u pacjentów z różnymi typami nowotworów z mutacjami w genach *TSC1/TSC2* (H7)**

W kolejnym projekcie wchodzącym w skład mojego osiągnięcia naukowego skoncentrowałam się na charakterystyce mutacji utraty funkcji w genach *TSC1/TSC2* oraz współwystępujących mutacji somatycznych w eksomie guzów nowotworowych, oraz określeniu ich związku z odpowiedzią na terapię everolimusem u pacjentów z różnymi typami nowotworów.

Niniejszy projekt realizowałam w trakcie stażu podoktorskiego w Bostonie, w ramach II fazy badania klinicznego terapii everolimusem u pacjentów z dowolnym typem zaawansowanego nowotworu (projekt 'pan-cancer') z mutacjami utraty funkcji w genach *TSC1/TSC2* lub mutacjami nabycia funkcji w genie *MTOR* (id badania w bazie NIH clinicaltrials.gov: NCT02201212, <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02201212?term=NCT02201212&rank=1>). Badanie to zostało przeprowadzone we współpracy z lekarzami i naukowcami z Dana-Farber Cancer Institute (Boston, MA) i Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC, New York, NY), oraz Novartis. Projekt ten został podsumowany w artykule opublikowanym w czasopiśmie

Clinical Cancer Research (5y-IF₂₀₂₀=12.8) (publikacja **H7**), w którym pełnię rolę współ-pierwszego autora.

Głównym celem projektu była identyfikacja czynników odgrywających rolę w odpowiedzi na terapię everolimusem, w tym typu nowotworu, cech klinicznych i demograficznych pacjentów oraz mutacji somatycznych w genach *TSC1/TSC2* lub *MTOR* i współwystępujących mutacji somatycznych w eksomie guzów nowotworowych. W ramach projektu przeprowadziłam kompleksową analizę mutacji somatycznych (w tym SNV, indel oraz dużych delecji/amplifikacji (ang. *copy number alterations*, CNA)) w eksomach nowotworowych u pacjentów z wcześniej wykrytą somatyczną mutacją utraty funkcji w genach *TSC1* lub genie *TSC2* lub mutacją nabycia funkcji w genie *MTOR* (**H7**: 'Table 1', 'Table 2', 'Figure 2', 'Supplementary Table S4'). Wyniki analizy eksomu porównałam z wcześniej otrzymanymi wynikami profilowania mutacji somatycznych przeprowadzonego w laboratoriach diagnostycznych, z użyciem testów MPS obejmujących panele 300-500 genów kandydatów o znanym związku z nowotworzeniem (panele OncoPanel (Brigham and Women's Hospital, Boston), MSK-IMPACT (MSKCC, Nowy Jork) lub Foundation One (Foundation Medicine)) (**H7**: 'Supplementary Table S1', 'Supplementary Table S5', 'Supplementary Table S6'). Przeprowadziłam również analizę związku pomiędzy odpowiedzią na terapię everolimusem oraz (i) obciążeniem guza nowotworowego mutacjami somatycznymi (ang. *tumor mutation burden*, TMB) a także (ii) obecnością somatycznych mutacji w genach związanych z nowotworzeniem z bazy OncoKB prowadzonej przez MSKCC w Nowym Jorku (**H7**: 'Figure 3').

Badanie wykazało, że terapia ewerolimusem przyniosła korzystne efekty u 4 z 30 (13%) pacjentów włączonych w niniejsze badanie kliniczne, w tym u 2 pacjentów z mięsakiem gładkomórkowym macicy z współwystępującymi biallelicznymi mutacjami utraty funkcji w genach *TSC2* oraz *NF1*.

Ze względu na niewielką frakcję pacjentów wykazujących dobrą odpowiedź na terapię (zaledwie 13%), nasze wyniki wskazują, że mutacje utraty funkcji w genach *TSC1/TSC2* nie są uniwersalnym biomarkerem prognostycznym odpowiedzi na terapię everolimusem w przypadku zaawansowanych nowotworów dowolnego typu. Badanie sugeruje jednak, że współwystępujące mutacje somatyczne prowadzące do inaktywacji genów *TSC2* oraz *NF1* mogą warunkować dobrą odpowiedź na terapię ewerolimusem w przypadku niektórych typów nowotworów, w tym mięsaków gładkokomórkowych macicy.

4.3.4. Podsumowanie

Najważniejsze efekty oraz zastosowania wyników wchodzących w skład mojego osiągnięcia naukowego są następujące:

- Mapy/schematy wizualizujące częstość i rozmieszczenie wariantów patogennych w genach *TSC1* oraz *TSC2* które stworzyłam w ramach niniejszego osiągnięcia (**H1**: 'Figure 2', 'Figure 3') znalazły wielokrotnie zastosowanie jako referencja w moich pracach

eksperymentalnych jak również stanowią przydatne źródło wiedzy dla społeczności naukowców, pacjentów i lekarzy w dziedzinie TSC.

- Analiza mozaikowości w TSC przeprowadzona na największej dotąd analizowanej grupie próbek/pacjentów (>300 próbek od 95 pacjentów) (**H2**) znacząco wzbogaca wiedzę na temat (i) spektrum i częstości wariantów o charakterze mozaikowym w genach *TSC1/TSC2* w różnych tkankach oraz (ii) cech klinicznych u pacjentów TSC z mozaikowością. Uzyskane wyniki stanowią cenne kompendium wiedzy, służące ograniczeniu ryzyka dziedziczenia wariantów oraz wprowadzeniu zachowań profilaktycznych łagodzących symptomy TSC u pacjentów.
- Zarówno wspomniana wyżej analiza mozaikowości (**H2**) jak również przypadek pacjentki o łagodnym fenotypie TSC ze sporadycznie współwystępującymi guzami AML i FAF (**H3**) podkreślają ogromną wagę dokładnego rozpoznania cech klinicznych, szeroko zakrojonej analizy MPS o wysokim pokryciu z uwzględnieniem próbek z różnych guzów i sparowanych próbek ‘normalnych’ oraz odpowiednich konsultacji genetycznych dla osób z podejrzeniem mozaikowości w genach *TSC1/TSC2*.
- Analiza MHPA w guzach skóry FAF u osób z TSC (**H5**) doprowadziła do odkrycia ‘deszczu’ powszechnie występujących mutacji somatycznych, generowanych przez promieniowanie UV w genie *TSC2* w skórze twarzy pacjentów z TSC. Mutacje te wiążą się z występowaniem tysięcy subklinicznych prekursorów FAF, których tylko niewielka część przekształca się w klinicznie rozpoznawalne guzy. Obserwacje te podkreślają znaczenie stosowania kremów z filtrem przeciwsłonecznym i innych środków ograniczających narażenie twarzy na promieniowanie UV u osób z TSC w każdym wieku.
- Ultraczuła metoda MHPA opracowana w ramach niniejszego osiągnięcia (**H5**) jest metodą uniwersalną i może znaleźć dalsze zastosowania w profilowaniu mutacji o niskiej częstości allelicznej u pacjentów z TSC jak również u osób z innymi chorobami genetycznymi w różnych kontekstach, na przykład w analizie (i) mozaikowości na niskim poziomie, (ii) somatycznych mutacji o niskiej częstości allelicznej w biopsjach guzów o niskiej zawartości komórek nowotworowych, czy (iii) mutacji w wolnym pozakomórkowym DNA (ang. *cell-free DNA*, cfDNA).
- Kompleksowa analiza eksomu w badaniu klinicznym terapii everolimusem u pacjentów z różnymi typami nowotworów z mutacjami w genach *TSC1/TSC2* (**H7**) sugeruje, że mutacje somatyczne prowadzące do współwystępującej biallelicznej inaktywacji genów *TSC2* oraz *NF1* mogą warunkować dobrą odpowiedź na terapię ewerolimusem u pacjentów z mięśniakiem gładkokomórkowym macicy.

4.3.5. Perspektywy

Metoda MHPA którą opracowałam podczas stażu podoktorskiego w Bostonie, stała się głównym narzędziem w moich obecnych badaniach prowadzonych w ramach projektu NCN

OPUS25 pt. *'Ultraczułe profilowanie mutacji napędzających nowotworzenie w dziedzicznych zespołach związanych z inaktywacją genów supresorowych'*, realizowanego w kierowanym przez mnie Zakładzie Genetyki Nowotworów w ICHB PAN w Poznaniu. Celem projektu jest rozpoznanie spektrum mutacji somatycznych oraz mechanizmu rozwoju guzów obserwowanych u pacjentów z różnymi zespołami związanymi z inaktywacją genów supresorowych, w tym TSC, zespołem Birt-Hogg-Dubé oraz dziedziczną mięśniakowatością gładkokomórkową z rakiem nerkowokomórkowym (ang. *Hereditary Leiomyomatosis and Renal Cell Cancer*, HLRCC).

5. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze: opis przebiegu kariery zawodowej, informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.

*W opisie poniżej odnoszę się do moich publikacji oznaczonych jako **N1-N15**, których lista znajduje się w sekcji 'II. Wykaz aktywności naukowej', w dokumencie 'Załącznik_5_Wykaz osiągnięć naukowych'.*

Na przestrzeni ostatnich 15 lat pracy badawczej rozwinęłam głęboką ekspertyzę w dziedzinie genetyki człowieka. Moje badanie doprowadziły do odkryć o dużej wartości poznawczej i potencjale aplikacyjnym, prowadzących do identyfikacji nierozpoznanych dotąd aspektów patogenezы chorób człowieka o podłożu genetycznym.

5.1. Przed uzyskaniem stopnia doktora

Moje zainteresowanie pracą naukową miało swoje początki w liceum, gdy uczęszczałam do klasy *'medicus'* o profilu biologiczno-chemicznym w I liceum ogólnokształcącym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W 2009 rozpoczęłam studia wyższe na kierunku biotechnologia na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza (UAM) w Poznaniu. Pracę licencjacką w tematyce biologii molekularnej roślin pt. *'Analiza prekursorów mikroRNA w różnych stadiach rozwojowych roślin: wykorzystanie wysokoprzepustowej platformy qPCR'* wykonałam pod kierunkiem prof. Artura Jarmołowskiego w Zakładzie Ekspresji Genów.

W kolejnych etapach mojej edukacji i kariery naukowej skoncentrowałam się na tematyce ukierunkowanej w stronę badań biomedycznych, w tym szczególnie badań w dziedzinie genetyki człowieka. W latach 2011-2013 podjęłam studia na kierunku biotechnologia o profilu biomedycznym prowadzone w języku angielskim, na Wydziale Biologii UAM w Poznaniu. Dodatkowe doświadczenie w tematyce genetyki człowieka zdobyłam podczas 3-miesięcznego (lipiec-wrzesień 2012) stażu w Niemczech, w ramach stypendium 'The Lifelong Learning Programme – Erasmus' w Division of Molecular Biology of Breast Cancer, Heidelberg University Women's Clinic/German Cancer Research Center w Heidelbergu, pod kierunkiem Dr Haralda Surowego i prof. Barbary Burwinkel, ekspertów w dziedzinie genetyki i epidemiologii raka piersi.

Działalność naukową w temacie genetyki człowieka rozpoczęłam w latach 2011-2017, podczas wykonywania pracy magisterskiej oraz doktorskiej pod kierunkiem prof. Piotra Kozłowskiego w Zakładzie Genetyki Molekularnej, w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Byłam odpowiedzialna za przeprowadzenie ambitnych projektów badawczych w tematyce genetycznych podstaw predyspozycji do raka piersi. W ramach kilku powiązanych tematycznie projektów, przeprowadziłam kompleksową analizę roli wybranych genów kandydatów w predyspozycji do raka piersi. Realizowane badania zostały częściowo sfinansowane z grantu NCN PRELUDIUM10, który pozyskałam podczas przygotowania pracy doktorskiej.

W ramach pierwszego z projektów, prowadzonego we współpracy z zespołem prof. Janusza Limona (Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny) opracowałam nową strategię zależnej od ligacji multipleksowej amplifikacji sond (ang. *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*, MLPA) do genotypowania dużych wariantów (wieleksonowych delecji/amplifikacji) w genie *BARD1*. Opracowaną strategię zastosowałam do analizy dużych wariantów w genie *BARD1* w dużej grupie kobiet z rakiem piersi i/lub jajnika (>800 próbek DNA z krwi). Otrzymane wyniki pozwoliły wykluczyć sugerowany wcześniej znaczący udział dużych wariantów w genie *BARD1* w predyspozycji do raka piersi i/lub jajnika (publikacja **N4**). Równolegle brałam również udział w określeniu patogenności kilku wybranych punktowych wariantów w genie *BARD1* z zastosowaniem metod *in silico* (publikacja **N6**).

W ramach kolejnego projektu, we współpracy z (i) zespołem prof. Jana Lubińskiego (Zakład Genetyki i Patomorfologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie), (ii) dr Magdaleną Ratajską (Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny), oraz (iii) dr Danutą Vasilevską (Zakład Ginekologii w Centrum Położnictwa i Ginekologii, Uniwersytecki Szpital Santaros Klinikos w Wilnie) przeprowadziłam analizę struktury i funkcji delecji genu *APOBEC3B* oraz scharakteryzowałam jej udział w predyspozycji do raka piersi w populacji europejskiej. Analiza pozwoliła określić dokładną strukturę delecji *APOBEC3B* i potwierdzić jej homogenność. Po raz pierwszy wykazała również wpływ delecji *APOBEC3B* na ekspresję wszystkich objętych przez nią genów, w tym genu hybrydowego *APOBEC3A/APOBEC3B*. Analiza asocjacji przeprowadzona w trzech niezależnych panelach próbek DNA (łącznie >6000 próbek) wykazała brak związku delecji *APOBEC3B* z predyspozycją do raka piersi w populacji europejskiej, co zostało dodatkowo potwierdzone w przeprowadzonej meta-analizie (publikacja **N9**).

Zagadnienia dotyczące genetycznych czynników warunkujących występowanie rodzinnej postaci raka piersi i/lub jajnika oraz doniesienia naukowe na temat genów-kandydatów o sugerowanym udziale w predyspozycji do raka piersi, zgromadzone w wyniku przeglądu dostępnej literatury, zostały podsumowane w pracy przeglądowej, która również wchodziła w skład mojej rozprawy doktorskiej (publikacja **N1**).

W ramach pracy doktorskiej, opracowałam również szereg testów analitycznych, które mogą zostać wykorzystane w dalszych analizach genetycznych. Wśród opracowanych testów/strategii należy wymienić: (i) strategię MLPA do genotypowania wielo-allelicznych zmian liczby kopii w *loci* związanych z powszechnie występującymi chorobami człowieka (publikacja **N2**), oraz (ii) oparty na MLPA test Multipoint Test for Targeted-enrichment Efficiency (MTTE), służący do walidacji bibliotek DNA przygotowanych do sekwencjonowania eksomu (publikacja **N8**).

Podczas studiów doktoranckich byłam zaangażowana również w inne projekty w tematyce zmienności somatycznej nowotworów człowieka (publikacje **N3**, **N5**, **N7**).

Uzyskane wyniki prezentowałam w formie wystąpień ustnych i prezentacji posterów na >10 krajowych i międzynarodowych konferencjach, w Polsce, Kanadzie, Danii i Wielkiej Brytanii. Moje osiągnięcia naukowe podczas studiów i na doktoracie zostały docenione 9 nagrodami/stypendiami, w tym *‘Nagrodą za wyróżniającą się pracę doktorską obronioną w latach 2017/2018’*, przyznaną przez Kapitułę Nagrody Miasta Poznania oraz *‘Stypendium Prezesa PAN dla najlepszych doktorantów 2017’*.

Podsumowując, moja praca badawcza podczas studiów doktoranckich zaowocowała współautorstwem w 9 publikacjach (**N1-N9**), w tym w 5 nich pełnię rolę pierwszego autora (łączny 5y IF: 36.4; łączna liczba cytowań: 204). 6 z niniejszych publikacji (**N1**, **N2**, **N4**, **N6**, **N8**, **N9**) zostało włączone w moją pracę doktorską, w postaci ‘spinki’ powiązanych tematycznie prac naukowych, obronioną z wyróżnieniem w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, w 2017 roku.

5.2. Po uzyskaniu stopnia doktora

5.2.1. Analiza związku wariantów w wybranych genach-kandydatach z ryzykiem raka piersi

Po obronie mojej pracy doktorskiej, w tym w trakcie mojego zatrudnienia na stanowisku biologa w Zakładzie Genetyki Molekularnej ICHB PAN w Poznaniu (01-02.2018) jak i w okresie późniejszym, byłam zaangażowana w 3 projekty skoncentrowane na określeniu roli wybranych genów kandydatów w predyspozycji do raka piersi. W ramach realizacji niniejszych projektów miałam możliwość wykorzystania ekspertyzy w temacie genetycznego podłoża predyspozycji do raka piersi, zdobytej wcześniej w trakcie doktoratu.

W pierwszym z projektów, wraz z dr Malwiną Suszyńską, przeprowadziłam szeroko zakrojoną meta-analizę (~120000 pacjentek z rakiem piersi i/lub jajnika oraz ~120000 osób z grupy kontrolnej) wariantów zidentyfikowanych w 37 genach kandydatach powszechnie włączanych w panele diagnostyczne do identyfikacji wariantów predysponujących do raka piersi i/lub jajnika. Meta-analiza pozwoliła po raz pierwszy precyzyjnie określić ryzyko raka piersi i/lub jajnika związane z poszczególnymi genami oraz umożliwiła właściwą interpretację ich wariantów w kontekście diagnostyki klinicznej. Niniejszy projekt został opublikowany w

publikacji w której występuję jako drugi autor, w czasopiśmie *Gynecologic Oncology* (5y-IF₂₀₁₈=4.3) (publikacja **N10**).

W drugim z projektów, brałam udział w analizie prowadzonej we współpracy z zespołem prof. Jana Lubińskiego (Zakład Genetyki i Patomorfologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie) oraz dr Magdaleną Ratajską (Katedra i Zakład Biologii i Genetyki Medycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny). Celem projektu była analiza wariantu założycielskiego p.Gln564* w genie *BARD1*, występującego relatywnie często w populacji polskiej. W ramach projektu przeprowadzono genotypowanie próbek pochodzących z grupy ~14000 pacjentek z rakiem piersi oraz ~5900 osób z grupy kontrolnej z populacji środkowoeuropejskiej, które doprowadziło do odkrycia związku niniejszego wariantu z umiarkowanym ryzykiem raka piersi (iloraz szans (ang. *odds ratio*, OR=2.3, p=0.04). Dodatkowe podwyższenie ryzyka raka piersi (OR=3.6, p=0.02) zaobserwowano u nosicielek wariantu p.Gln564* z rakiem potrójnie-ujemnym, tj. agresywnym podtypem raka piersi charakteryzującym się brakiem ekspresji receptorów steroidowych (estrogenowego i progesteronowego) oraz brakiem nadekspresji receptora HER2. Wyniki projektu opublikowano w czasopiśmie *Cancers* (2y-IF₂₀₁₈=6.162) (publikacja **N11**).

Dodatkowo, w ramach współpracy z zespołem Dr Corinny Ernst z Centrum Rodzinnego Raka Piersi i Jajnika w Szpitalu Uniwersyteckim w Kolonii w Niemczech, brałam udział w szeroko zakrojonej analizie zmian liczby kopii (ang. *copy number variants*, CNVs) w genach związanych z predyspozycją do raka piersi i jajnika, w grupie >4000 pacjentek. W ramach niniejszego projektu, test *BARD1*-MLPA opracowany przeze mnie wcześniej podczas przygotowania mojej pracy doktorskiej, posłużył do niezależnej walidacji CNV w genie *BARD1* zidentyfikowanych wcześniej z zastosowaniem sekwencjonowania MPS. Wyniki zostały podsumowane w czasopiśmie *Cancers* (5y-IF₂₀₂₀=6.99) (publikacja **N13**).

W latach 2018-2023 odbyłam długoterminowy staż podoktorski pod kierunkiem Dr David'a Kwiatkowskiego w Brigham and Women's Hospital i Harvard Medical School w Bostonie. Dr David Kwiatkowski jest światowym liderem w genetyce TSC oraz jego objawów klinicznych, a także w genetyce nowotworów [członek Broad Institute of MIT and Harvard oraz programu The Cancer Genome Atlas (TCGA); lider programu Cancer Genetics w Dana-Farber/Harvard Cancer Center]. Od roku 2018 pełnię również funkcję post-doc'a/członka afiliowanego w Broad Institute of MIT and Harvard w Cambridge w programie 'cancer program', co umożliwiło mi współpracę z wiodącymi ekspertami w dziedzinie bioinformatyki oraz nabycie ekspertyzy w analizie bioinformatycznej danych MPS.

W trakcie stażu podoktorskiego oraz obecnej kontynuacji współpracy z Dr David'em Kwiatkowskim, byłam/jestem zaangażowana w ponad 10 projektów naukowych, których celem jest scharakteryzowanie nowych aspektów genomiki TSC i nowotworów, z użyciem nowatorskich metod MPS. W latach 2020-2022 zdobyłam i zrealizowałam prestiżowy grant *TSC Alliance Postdoctoral Fellowship Award* finansowany przez *TSC Alliance* (<https://www.tscalliance.org/tsc-matters/tsc-researcher-spotlight-katarzyna-kasia->

[klonowska/](#)). Grant *TSC Alliance Postdoctoral Fellowship Award* ma na celu zapewnienie finansowania podstawowych i wdrożeniowych badań naukowych w tematyce TSC.

Większość projektów, które realizowałam podczas stażu w Bostonie została podsumowana w cyklu publikacji włączonych do mojego osiągnięcia naukowego (H1-H7). Inne opublikowane osiągnięcia naukowe/projekty w które byłam zaangażowana podczas stażu w grupie Dr Kwiatkowskiego omawiam poniżej, w rozdziałach 5.2.2. i 5.2.3..

5.2.2. I faza badania klinicznego terapii celecoxib u pacjentów z limfangioleiomiomatozą (ang. *lymphangioleiomyomatosis*, LAM)

Limfangioleiomiomatoza (LAM) to choroba płuc, która dotyka niemal wyłącznie kobiety. LAM charakteryzuje się proliferacją nieprawidłowych komórek przypominających mięśnie gładkie (ang. *smooth muscle-like*) z mutacjami w genie *TSC2* lub rzadziej w genie *TSC1*. LAM może występować sporadycznie lub jako symptom TSC. W ramach jednego z projektów, we współpracy z ekspertami w tematyce klinicznych objawów LAM, Dr Souheil El-Chemaly i Dr Elisabeth Henske z Brigham and Women's Hospital, byłam zaangażowana w badanie klinicznego terapii celecoxib u pacjentów z LAM. W niniejszym projekcie byłam odpowiedzialna za przeprowadzenie analizy MPS o wysokiej głębokości pokrycia (średnia głębokość: >1000x) w celu wykrycia mutacji w genach *TSC1/TSC2* w próbkach cfDNA wyizolowanych z osocza pacjentów z LAM. Wyniki projektu zostały podsumowane w prestiżowym czasopiśmie *European Respiratory Journal* (5y-IF₂₀₁₉=11.706) (publikacja N12).

5.2.3. EPISTOP – kompleksowa analiza multi-omiczna w poszukiwaniu biomarkerów epilepsji

Analiza ta została przeprowadzona w międzynarodowej, wieloośrodkowej współpracy instytucji naukowych z Polski, Niemiec, Holandii, Wielkiej Brytanii, Włoch, Austrii, Belgii, Czech, Australii i Stanów Zjednoczonych, w ramach realizacji projektu EPISTOP (7.Program Ramowy Unii Europejskiej, kierownik projektu: prof. Sergiusz Jóźwiak, Instytut 'Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka' w Warszawie). EPISTOP to badanie nad padaczką wczesnodziecięcą u pacjentów z TSC, którego celem było wyjaśnienie mechanizmów powstawania padaczki oraz znalezienie sposobów jej zapobiegania u dzieci. To pierwszy na świecie program, w którym padaczka była badana od etapu pojawienia się zmian w mózgu, zanim jeszcze widoczne są napady padaczkowe.

W części projektu 'molekularny EPISTOP', w którą byłam zaangażowana, przeprowadzono kompleksową analizę multi-omiczną z zastosowaniem integratywnej analizy danych badań ekspresji genów, genomicznych, metabolomicznych oraz proteomicznych. Analiza ta została przeprowadzona na próbkach krwi pochodzących od 93 dzieci z TSC (wiek 0-2 lat) włączonych w badanie kliniczne przedobjawowej terapii wiga batryną w celu przeciwdziałania napadom padaczkowym. Celem analizy była identyfikacja biomarkerów rozwoju napadów

padaczkowych. Mój udział w niniejszym projekcie polegał na selekcji i scharakteryzowaniu polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (ang. *single nucleotide polymorphisms*, SNPs) związanych z padaczką. Wyselekcjonowane przeze mnie SNP zostały włączone do analizy, która doprowadziła do identyfikacji integratywnych multi-omicznych modeli predykcyjnych rozwoju napadów padaczkowych u dzieci z TSC. Projekt ten podsumowano w renomowanym czasopiśmie *Nature Communications* (5y-IF₂₀₂₂= 17.0) (publikacja **N14**).

Oprócz wyżej wymienionych projektów, podczas stażu w Bostonie miałam drobny udział w przygotowaniu artykułu typu *case study* we współpracy z Dr Laurą Farach z UTHealth Houston i Children's Memorial Hermann Hospital w Houston, USA (publikacja **N15** w czasopiśmie *Gene* (5y-IF₂₀₂₂=3.3)), w ramach której uczestniczyłam w ocenie patogenności mutacji c.4255_4256delCA w genie *TSC2*.

Warto również wspomnieć, iż na podstawie doświadczenia zdobytego na stażu podoktorskim zostałam również zatrudniona jako konsultant w dziedzinie genetyki nowotworów w firmie farmaceutycznej AADi Bioscience Inc (California, USA) (maj 2021 - lipiec 2021 oraz październik 2021- luty 2023), w badaniu klinicznym terapii nowotworów z mutacjami w genach *TSC1/TSC2* z zastosowaniem nab-sirolimusu (clinicaltrials.gov id: NCT05103358, <https://clinicaltrials.gov/search?cond=NCT05103358>). Moja rola polegała na wizualizacji danych genetycznych pacjentów (w formie lollipop plot oraz co-mutation plot) oraz doradztwie i przygotowanie ekspertyz w zakresie oceny patogenności mutacji w *TSC1/TSC2* u pacjentów włączanych w niniejsze badanie kliniczne, w kontekście stosowanej terapii. Byłam również odpowiedzialna za rejestrację oraz charakteryzowanie danych genetycznych dla pacjentów włączonych w badanie, z zastosowaniem bazy danych online Medidata Rave for Electronic Data Capture (EDC) System.

Po odbyciu stażu, w kwietniu 2023 roku rozpoczęłam pracę jako adiunkt w Zakładzie Genetyki Molekularnej, a od stycznia 2024 objęłam stanowisko kierownika Zakładu Genetyki Nowotworów w ICHB PAN w Poznaniu. Od marca 2024 realizuję grant OPUS25 NCN pt. 'Ultraczułe profilowanie mutacji napędzających nowotworzenie w dziedzicznych zespołach związanych z inaktywacją genów supresorowych', w którym pełnię funkcję kierownika. Projekt realizujemy w 3-osobowym zespole (wraz z post-doc'iem i doktorantem), w międzynarodowej współpracy z wiodącymi ekspertami w dziedzinie genetyki klinicznej oraz zespołów związanych z inaktywacją genów supresorowych, w tym:

- (i) Dr David'em J. Kwiatkowskim, Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital, Boston, Stany Zjednoczone;
- (ii) Dr Neil'em Rajan, Translational and Clinical Research Institute, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, Wielka Brytania;
- (iii) Dr Kuniaki Seyama, Division of Respiratory Medicine, Faculty of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japonia.

Dodatkowo kontynuuję współpracę naukową z Dr David'em Kwiatkowskim, biorąc udział w projektach związanych z (i) somatyczną zmiennością genetyczną w guzach związanych z TSC, oraz (ii) poszukiwaniem genów/mutacji modyfikujących fenotyp u pacjentów z TSC.

W przyszłości planuję rozszerzyć działalność naszego Zakładu w kierunku ultraczulej analizy mutacji na niskim poziomie w różnych nowotworach skóry, w tym w BCC.

Moje osiągnięcia naukowe po uzyskaniu stopnia doktora zostały docenione 6 nagrodami/stypendiami, w tym najbardziej prestiżowe to (i) 'Research Excellence Award 2020 i 2021' za wyróżniające się osiągnięcia naukowe, przyznane przez The Brigham Research Institute's Research Oversight Committee (Brigham and Women's Hospital, Boston, USA) oraz (ii) stypendium w kategorii habilitacyjnej w programie 'L'Oreal-UNESCO dla Kobiet i Nauki 2024'.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

- Opieka nad 6 studentami (uczniowie liceum, college'u oraz studiów magisterskich, w tym studenci Massachusetts Institute of Technology (MIT) i Boston University), 1 doktorantem oraz 3 post-doc'ami, w tym:
 - Opieka nad magistrantką Klaudią Wieczorek (studentka 4 i 5 roku biotechnologii na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu) w trakcie mojego doktoratu w Zakładzie Genetyki Molekularnej, w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu
kwiecień 2015-lipiec 2016
promotor pracy magisterskiej: prof. Piotr Kozłowski
tytuł pracy magisterskiej: *'Analiza wariantów genetycznych związanych z dziedziczną predyspozycją do raka piersi'*
 - Opieka nad stażystką Karly Hamilton (uczennica 1 klasy liceum, Brimmer w Chestnut Hill, MA, USA) podczas mojego stażu post-doc w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
lipiec-sierpień 2019
Artykuł stażystki: <https://bwhclinicalandresearchnews.org/2019/09/06/insights-from-a-summer-of-science/>
Charakter stażu: praca eksperymentalna w obszarze genetyki TSC
 - Opieka nad stażystką Jenna Smith (studentka 2 roku college'u, University of Minnesota) podczas mojego stażu post-doc w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
lipiec-sierpień 2019
Charakter stażu: pomoc w opracowaniu bioinformatycznego skryptu do analizy danych MPS

- Opieka nad stażystką Marianą Meza Vazquez (w chwili rozpoczęcia stażu studentka 5 roku medycyny molekularnej na Norwegian University of Science and Tech (NTNU) w Trondheim w Norwegii) rozpoczęta podczas mojego stażu post-doc w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
lipiec 2020 – obecnie
Charakter stażu: praca zdalna, obecnie udział w przygotowaniu artykułu przeglądowego podsumowującego spektrum mutacji somatycznych w skórze człowieka
- Opieka nad stażystką Victorią Dziecioł (wówczas studentka 2 roku college'u, Massachusetts University of Technology (MIT), Cambridge, USA) podczas mojego stażu post-doc w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
wrzesień 2020 – maj 2021
Charakter stażu: analiza danych genomicznych w projekcie EPISTOP – poszukiwanie genów modyfikujących fenotyp pacjentów z TSC
- Opieka nad stażystą John'em Lee (w chwili rozpoczęcia stażu student 2 roku college'u Boston University, Boston, USA) rozpoczęta podczas mojego stażu post-doc w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
czerwiec 2021 – obecnie
Charakter stażu: analiza danych sekwencjonowania całego genomu guzów skóry pochodzących od pacjentów z TSC
- Opieka nad post-doc'iem Victorią-Elisabeth Gruber podczas mojego stażu post-doc w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
październik 2021 – lipiec 2022
Charakter pracy: praca eksperymentalna w dziedzinie genetyki człowieka; analiza mutacji somatycznych w zmianach w płucach u pacjentów z limfangioleiomiomatozą (LAM)
- Opieka nad post-doc'iem Elias Bou Farhat podczas mojego stażu podoktorskiego w Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
lipiec 2022 – marzec 2023
Charakter pracy: praca eksperymentalna w dziedzinie genetyki człowieka; analiza mutacji somatycznych w zmianach w płucach u pacjentów z limfangioleiomiomatozą (LAM)
- Opieka nad doktorantem mgr inż. Marcinem Drzewieckim w ramach realizacji kierowanego przeze mnie grantu OPUS25 w Zakładzie Genetyki Nowotworów w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

kwiecień 2024 – obecnie

Charakter pracy: praca eksperymentalna w laboratorium w dziedzinie genetyki człowieka; Ultraczułe profilowanie mutacji napędzających nowotworzenie w dziedzicznych zespołach związanych z inaktywacją genów supresorowych

Moja obecna rola: promotor pomocniczy. Po uzyskaniu stopnia doktora habilitowanego chciałabym zostać jego promotorem.

- Opieka nad post-doc'iem dr Izabelą Broniarek w ramach realizacji kierowanego przeze mnie grantu OPUS25 w Zakładzie Genetyki Nowotworów w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

styczeń 2025 – obecnie

Charakter pracy: praca eksperymentalna w laboratorium w dziedzinie genetyki człowieka; Ultraczułe profilowanie mutacji napędzających nowotworzenie w dziedzicznych zespołach związanych z inaktywacją genów supresorowych

- Wygłoszenie wykładu dla studentów Kitasato University – Exchange Program 2022, organizowany we współpracy między Department of Biosciences, School of Science, Kitasato University (Tokio, Japonia) i Cancer Genetics Laboratory, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School (Boston, USA)
Celem programu jest zachęcenie studentów do pracy naukowej oraz realizacji badań w międzynarodowym środowisku naukowców w ramach staży zagranicznych.
- Dodatkową wiedzę dotyczącą opieki dydaktycznej nad studentami zdobyłam dzięki udziałowi w kursie/warsztatach 'Science Mentoring Workshop Intensives 2020-2021' organizowanych przez Harvard University.

6.2. Osiągnięcia organizacyjne

- Od stycznia 2024 roku jestem kierownikiem Zakładu Genetyki Nowotworów w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu.
- Nabyłam umiejętności organizacyjne i zarządzania projektami w Polsce i Stanach Zjednoczonych, jako PI grantów PRELUDIUM NCN, OPUS NCN oraz prestiżowego TSC Alliance Postdoctoral Fellowship. Dodatkową wiedzę na temat zarządzania zespołem oraz projektami badawczymi zdobyłam dzięki udziałowi w kursie 'Leadership for the Researchers 2022' organizowanym przez Harvard University.
- Jestem członkiem zespołu doradczego Dyrektora Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN ds. Rozwoju Młodych Pracowników Naukowych (od 02.2024-obecnie).

- Brałam udział w organizacji dwóch konferencji, w tym:
 - Konferencji 'LEKARZ-PACJENT-NAUKOWIEC: współpraca w chorobach rzadkich 2024' 28.02.2024, online, z okazji międzynarodowego dnia chorób rzadkich (wydarzenie finansowane przez grant Ministra Edukacji i Nauki w ramach Programu 'Doskonała Nauka II')
 - Rola:
 - członek komitetu naukowego
 - członek komitetu organizacyjnego
 - moderator sesji 'LEKARZ' z udziałem wybitnych ekspertów w dziedzinie genetyki i biologii molekularnej chorób rzadkich
 - Konferencji '15th International Conference of Contemporary Oncology', 17-20.04.2024, online, Poznań, Polska
 - Rola:
 - Osoba prowadząca/moderator sesji 'Genetics and Cancer' (<https://www.termedia.pl/Konferencja-15th-International-Conference-of-Contemporary-PROGRAM-ENG,2217,29375.html>)
- Na 151. Sesji Zgromadzenia Ogólnego PAN zostałam wybrana jako nowy członek prestiżowej Akademii Młodych Uczonych PAN (kadencja 2024-2029).

Członkowie Akademii Młodych Uczonych PAN wyróżniają się wybitnymi osiągnięciami badawczymi oraz działalnością upowszechniającą naukę. Akademia Młodych Uczonych została powołana w celu promowania badań naukowych prowadzonych przez młodych naukowców. Ma za zadanie aktywizować środowisko młodych badaczy m.in. poprzez przedstawianie opinii i programów dotyczących spraw nauki, organizowanie debat, dyskusji i konferencji naukowych, a także upowszechnianie standardów etyki wśród młodych naukowców.
- Byłam członkiem komisji oceniającej postery ('poster judge') na konferencji '18th Annual Broad Institute Scientific Retreat 2022' 12-13.12.2022, Broad Institute of MIT and Harvard, Boston, USA

6.3. Popularyzacja nauki

- Udział w organizacji 'Nocy Naukowców' (2014-2017) oraz 'Festiwalu Nauki i Sztuki', organizowanych corocznie w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

Oba wydarzenia sprzyjają popularyzacji nauki wśród uczniów i ogółu społeczeństwa, poprzez obserwację i udział w przeprowadzeniu eksperymentów naukowych.
- Wykład na sympozjum 'Women in Medicine & Science 2021', popularyzującym osiągnięcia kobiet naukowców i lekarzy w Brigham and Women's Hospital (Boston, USA)

Symposium 'Women in Medicine & Science' corocznie organizowane w Brigham and Women's Hospital w Bostonie wspiera i promuje osiągnięcia naukowe utalentowanych badaczek oraz ma na celu zachęcić kolejne pokolenie kobiet do pracy naukowej.

- Wykład na konferencji 'Young Science Beyond Borders 2024'

<https://amu.pan.pl/ysbb/programme-outline-2024/>

Konferencja organizowana przez Akademię Młodych Uczonych PAN, popularyzująca pracę naukową w Polsce wśród międzynarodowej społeczności studentów i młodych badaczy.

- Działalność w Zespole ds. Wydarzeń Akademii Młodych Uczonych PAN (kadencja 2024-2029)

Udział w organizacji konferencji i wydarzeń popularyzujących naukę, w tym:

- Udział w organizacji 'Kuzni Młodych Talentów 2025' (planowany termin wydarzenia: wrzesień 2025, <https://amu.pan.pl/kmtamu/>), warsztatów edukacyjnych dla doktorantów obejmujących zagadnienia z zakresu przygotowania wniosków o granty na badania, statystyki i analizy danych w praktyce badawczej, a także międzynarodowej współpracy w środowisku naukowym

Pełniona funkcja: zastępca przewodniczącego rady programowej, wykładowca.

- Udział w realizacji 'Kopalni Młodych Naukowców 2025' (inauguracja części mentoringowej wydarzenia: kwiecień 2025, <https://amu.pan.pl/kmn/>), programu mentoringowo-szkoleniowego dla uczniów i uczennic szkół ponadpodstawowych, którego celem jest popularyzacja osiągnięć naukowych i pracy naukowców oraz zachęcenie młodych osób do obrania ścieżki kariery naukowej

Pełniona funkcja: mentor.

7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej

Moje osiągnięcia naukowe zostały docenione 15 nagrodami/stypendiami w Polsce, Stanach Zjednoczonych i Wielkiej Brytanii, w tym:*

**Najbardziej prestiżowe zaznaczone na [niebiesko](#)*

2024 Stypendium w kategorii habilitacyjnej w programie 'L'Oreal-UNESCO dla Kobiet i Nauki 2024' przyznane przez L'Oreal we współpracy z UNESCO, Ministerstwem Nauki i Szkolnictwa Wyższego, PAN oraz UN Global Compact Network Poland

2024 Dołączenie do prestiżowej Akademii Młodych Uczonych PAN jako członek w kadencji 2024-2029, na podstawie wyborów na 151. Sesji Zgromadzenia Ogólnego PAN

2022 One Minute Abstract Award przyznana przez organizatorów International LAM Research Conference & Lamposium 2022, Chicago, USA

2021 Early Career Researcher Award przyznana przez organizatorów International Tuberous Sclerosis Complex Research Conference 2021 (konferencja wirtualna, UK)

2021 **Research Excellence Award 2021** za wyróżniające się osiągnięcia naukowe, przyznana przez The Brigham Research Institute's Research Oversight Committee (Brigham and Women's Hospital, Boston, USA)

2020 **Research Excellence Award 2020** za wyróżniające się osiągnięcia naukowe, przyznana przez The Brigham Research Institute's Research Oversight Committee (Brigham and Women's Hospital, Boston, USA)

2019 **Nagroda za wyróżniającą się pracę doktorską** obronioną w latach 2017/2018, przyznana przez Kapitułę Nagrody Miasta Poznania

2018 **Nagroda poznańskiego Oddziału PAN, za najlepszą pracę badawczą, której wiodącym autorem był doktorant** (Klonowska et al., Oncotarget, 2017, 8(44): 76357-76374)

2017 **Stypendium European Society of Human Genetics** wspierające udział w konferencji 'The European Human Genetics Conference 2017: 1967 - 2017: 50th Anniversary of the ESHG' w Kopenhadze, Dania

2016 **Stypendium Kapituły Nagrody Naukowej Miasta Poznania** dla młodych badaczy z poznańskiego środowiska naukowego

2016 **Stypendium w ramach programu finansowania Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący (KNOW)** wspierające udział w 'The American Society of Human Genetics 2016 Annual Meeting' w Vancouver, Kanada

2016 **Stypendium Prezesa PAN dla najlepszych doktorantów**

2015 **Stypendium Wellcome Trust Sanger Institute and Nature Genetics** na udział w konferencji 'The Genomics of Common Diseases 2015' w Hinxton, UK

2015-2017 **Stypendium dla najlepszych doktorantów** przyznane przez Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

2012-2013 **Stypendium rektora dla najlepszych studentów** Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Szczegółowe informacje dotyczące mojej aktywności naukowej, w tym:

- pełen wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (22);
 - pełen wykaz wykładów (17) i posterów konferencyjnych (15 jako autor prezentujący, 7 jako współautor);
 - informacje o udziale w grantach/projektach badawczych (11);
 - wykaz odbytych staży zagranicznych (2);
 - informacje o recenzowanych pracach naukowych (12) i inne
- znajdują się w 'Załącznik_5_Wykaz osiągnięć naukowych'.*

8. Literatura

Alexandrov LB, Kim J, Haradhvala NJ et al. The repertoire of mutational signatures in human cancer. *Nature* 2020, 578(7793): 94-101.

Alsidawi S, Kasi PM. Exceptional response to everolimus in a novel tuberous sclerosis complex-2 mutation-associated metastatic renal-cell carcinoma. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 2018, 4(2).

Asgharian B, Turner ML, Gibril F et al. Cutaneous tumors in patients with multiple endocrine neoplasm type 1 (MEN1) and gastrinomas: prospective study of frequency and development of criteria with high sensitivity and specificity for MEN1. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89(11): 5328-5336.

Au KS, Hebert AA, Roach ES et al. Complete inactivation of the TSC2 gene leads to formation of hamartomas. *Am J Hum Genet* 1999, 65(6): 1790-1795.

Baselga J, Campone M, Piccart M et al. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2012, 366(6): 520-529.

Bissler JJ, Kingswood JC, Radzikowska E et al. Everolimus for angiomyolipoma associated with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangioleiomyomatosis (EXIST-2): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2013, 381(9869): 817-824.

Black ME, Hedgire SS, Camposano S et al. Hepatic manifestations of tuberous sclerosis complex: a genotypic and phenotypic analysis. *Clin Genet* 2012, 82(6): 552-557.

Bonilla X, Parmentier L, King B et al. Genomic analysis identifies new drivers and progression pathways in skin basal cell carcinoma. *Nat Genet* 2016, 48(4): 398-406.

Chakravarty D, Gao J, Phillips SM et al. OncoKB: A Precision Oncology Knowledge Base. *JCO Precis Oncol* 2017, PO.17.00011.

Chen JL, Miller DT, Schmidt LS et al. Mosaicism in Tumor Suppressor Gene Syndromes: Prevalence, Diagnostic Strategies, and Transmission Risk. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2022, 23331-361.

Crino PB, Nathanson KL, Henske EP. The tuberous sclerosis complex. *N Engl J Med* 2006, 355(13): 1345-1356.

Dabora SL, Jozwiak S, Franz DN et al. Mutational analysis in a cohort of 224 tuberous sclerosis patients indicates increased severity of TSC2, compared with TSC1, disease in multiple organs. *Am J Hum Genet* 2001, 68(1): 64-80.

Flum AS, Hamoui N, Said MA et al. Update on the Diagnosis and Management of Renal Angiomyolipoma. *J Urol* 2016, 195(4 Pt 1): 834-846.

Fokkema IF, Taschner PE, Schaafsma GC et al. LOVD v.2.0: the next generation in gene variant databases. *Hum Mutat* 2011, 32(5): 557-563.

Fowler JC, King C, Bryant C et al. Selection of Oncogenic Mutant Clones in Normal Human Skin Varies with Body Site. *Cancer Discov* 2021, 11(2): 340-361.

Franz DN, Belousova E, Sparagana S et al. Efficacy and safety of everolimus for subependymal giant cell astrocytomas associated with tuberous sclerosis complex (EXIST-1): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2013, 381(9861): 125-132.

Fujii Y, Ajima J, Oka K et al. Benign renal tumors detected among healthy adults by abdominal ultrasonography. *Eur Urol* 1995, 27(2): 124-127.

Giannikou K, Malinowska IA, Pugh TJ et al. Whole Exome Sequencing Identifies TSC1/TSC2 Biallelic Loss as the Primary and Sufficient Driver Event for Renal Angiomyolipoma Development. *PLoS Genet* 2016, 12(8): e1006242.

Giannikou K, Lasseter KD, Grevelink JM et al. Low-level mosaicism in tuberous sclerosis complex: prevalence, clinical features, and risk of disease transmission. *Genet Med* 2019, 21(11): 2639-2643.

Giannikou K, Zhu Z, Kim J et al. Subependymal giant cell astrocytomas are characterized by mTORC1 hyperactivation, a very low somatic mutation rate, and a unique gene expression profile. *Mod Pathol* 2021, 34(2): 264-279.

Henske EP, Neumann HP, Scheithauer BW et al. Loss of heterozygosity in the tuberous sclerosis (TSC2) region of chromosome band 16p13 occurs in sporadic as well as TSC-associated renal angiomyolipomas. *Genes Chromosomes Cancer* 1995, 13(4): 295-298.

Henske EP, Scheithauer BW, Short MP et al. Allelic loss is frequent in tuberous sclerosis kidney lesions but rare in brain lesions. *Am J Hum Genet* 1996, 59(2): 400-406.

Henske EP, Jozwiak S, Kingswood JC et al. Tuberous sclerosis complex. *Nat Rev Dis Primers* 2016, 216035.

Hudes G, Carducci M, Tomczak P et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007, 356(22): 2271-2281.

Iyer G, Hanrahan AJ, Milowsky MI et al. Genome sequencing identifies a basis for everolimus sensitivity. *Science* 2012, 338(6104): 221.

Jozwiak S, Sadowski K, Borkowska J et al. Liver Angiomyolipomas in Tuberous Sclerosis Complex-Their Incidence and Course. *Pediatr Neurol* 2018, 78: 20-26.

Knudson AG, Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971, 68(4): 820-823.

Kwiatkowski DJ, Palmer MR, Jozwiak S et al. Response to everolimus is seen in TSC-associated SEGAs and angiomyolipomas independent of mutation type and site in TSC1 and TSC2. *Eur J Hum Genet* 2015, 23(12): 1665-1672.

Kwiatkowski DJ, Wagle N. mTOR Inhibitors in Cancer: What Can We Learn from Exceptional Responses? *EBioMedicine* 2015, 2(1): 2-4.

Martincorena I, Roshan A, Gerstung M et al. Tumor evolution. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. *Science* 2015, 348(6237): 880-886.

Niida Y, Stemmer-Rachamimov AO, Logrip M et al. Survey of somatic mutations in tuberous sclerosis complex (TSC) hamartomas suggests different genetic mechanisms for pathogenesis of TSC lesions. *Am J Hum Genet* 2001, 69(3): 493-503.

Salussolia CL, Klonowska K, Kwiatkowski DJ et al. Genetic Etiologies, Diagnosis, and Treatment of Tuberous Sclerosis Complex. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2019, 20: 217-240.

Suehnholz SP, Nissan MH, Zhang H et al. Quantifying the Expanding Landscape of Clinical Actionability for Patients with Cancer. *Cancer Discov* 2024, 14(1): 49-65.

Treichel AM, Hamieh L, Nathan NR et al. Phenotypic distinctions between mosaic forms of tuberous sclerosis complex. *Genet Med* 2019, 21(11): 2594-2604.

Tyburczy ME, Wang JA, Li S et al. Sun exposure causes somatic second-hit mutations and angiofibroma development in tuberous sclerosis complex. *Hum Mol Genet* 2014, 23(8): 2023-2029.

Tyburczy ME, Dies KA, Glass J et al. Mosaic and Intronic Mutations in TSC1/TSC2 Explain the Majority of TSC Patients with No Mutation Identified by Conventional Testing. *PLoS Genet* 2015, 11(11): e1005637.

Wagle N, Grabiner BC, Van Allen EM et al. Activating mTOR mutations in a patient with an extraordinary response on a phase I trial of everolimus and pazopanib. *Cancer Discov* 2014, 4(5): 546-553.

Wei L, Christensen SR, Fitzgerald ME et al. Ultradeep sequencing differentiates patterns of skin clonal mutations associated with sun-exposure status and skin cancer burden. *Sci Adv* 2021, 7(1): eabd7703.

Yao JC, Shah MH, Ito T et al. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011, 364(6): 514-523.

Zehir A, Benayed R, Shah RH et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med* 2017, 23(6): 703-713.

 **PODPIS ZAUFANY**
KATARZYNA
KLONOWSKA
06.05.2025 11:41:23 [GMT+2]
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

.....
(podpis wnioskodawcy)