

Recenzja rozprawy doktorskiej

**Charakterystyka wybranych kolistych RNA w glejaku wielopostaciowym- biogeneza kolistych RNA
i ich potencjalne funkcje**

autorstwa mgr Julii Latowskiej-Łysiak

wykonanej w

Zakładzie Neuroonkologii Molekularnej
Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk

Promotor: dr hab. Katarzyna Rolle, Prof. ICHB PAN

Znaczenie podjętej problematyki badawczej

Postęp w rozwoju wysokoprzepustowych technik analizy genomu, transkryptomu, proteomu oraz w zakresie innych analiz omicznych, otwiera nowe możliwości i nowe obszary poznawania złożonej biologii chorób i coraz skuteczniejsze próby translacji zdobytej wiedzy do zastosowań w praktyce klinicznej. W przypadku nowotworów, wkraczanie w takie nowe obszary poznania ma szczególne znaczenie, ze względu na wysoką heterogenność ich podłoża molekularnego. Heterogenność obserwowana jako mnogość typów i podtypów histopatologicznych i molekularnych, czy w końcu heterogenność w obrębie pojedynczego guza, jest cechą typową dla wielu nowotworów i stanowi jednocześnie jedno z największych wyzwań w terapii. Odpowiedzią na tę heterogenność jest personalizacja terapii, czyli dobór podejścia terapeutycznego, bazującego ściśle na wiedzy dotyczącej molekularnych cech nowotworu u danego pacjenta. Rozwój terapii personalizowanych wymaga jednak dogłębnego poznania biologii danego nowotworu. Obszar analizy ekspresji i funkcji kolistych RNA w biologii glejaka wielopostaciowego (GBM) stanowi nowy i, w znacznej mierze, niezbadany obszar.

Dlatego oceniam wybór tematu badań jako bardzo trafny - istotny poznawczo i ważny klinicznie, ze względu na fakt, że glejak wielopostaciowy jest nowotworem o wysokim stopniu agresywności, charakteryzuje się znaczną heterogennością, a co się z tym wiąże – nieskutecznością obecnie stosowanych form terapii. Wagę podjętego problemu badawczego obrazują statystyki dotyczące średniego czasu przeżycia pacjentów z GBM, który przy zastosowaniu dostępnych standardów leczenia wynosi mniej więcej 15 miesięcy.

Struktura rozprawy i ocena formalna

Praca ma formę monografii, zawierającej się na 180 stronach i obejmuje spis treści, wykaz prac naukowych, których Doktorantka jest współautorką (2 prace opublikowane, 3 manuskrypty w recenzji; łącznie w 3 pracach Doktorantka jest pierwszą autorką), następnie listę skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, materiały i metody, cele pracy, wyniki, dyskusję, wnioski i perspektywy oraz bibliografię (348 pozycji). Praca zawiera 51 rycin i 27 tabel. Przydatny byłby spis rycin i tabel jako uzupełnienie spisu treści.

Ocena merytoryczna rozprawy

Wprowadzenie

Stanowi doskonały wstęp merytoryczny do prezentowanych badań i jest odpowiednio wyważone pod względem zakresu prezentowanych treści. Zawiera informacje o epidemiologii i klasyfikacji nowotworów OUN, omówienie epidemiologii, diagnostyki i leczenia oraz klasyfikacji, w tym molekularnej, glejaków wielopostaciowych. Zawiera przegląd aktualnej wiedzy na temat kolistych RNA, ich biogenezy, degradacji, funkcji w fizjologii i patologii, w tym ich udziału w patogenezie chorób nowotworowych, z uwzględnieniem stanu wiedzy na temat kolistych RNA w GBM.

Doktorantka umiejętnie wyjaśnia prezentowane treści, podkreślając szczególnie związek opisywanych zjawisk i cech nowotworu z wyzwaniami w terapii GBM. Na uwagę zasługuje część wprowadzenia, w której Doktorantka omawia potencjalne role kolistych RNA w nowotworzeniu, poprzez pryzmat ich udziału w procesach związanych z tzw. flagowymi cechami nowotworów (ang. *hallmarks of cancer*). Z obowiązku recenzenta zauważam, że cech tych jest 10, a nie 8, ale jest to jedynie błąd literowy, gdyż Doktorantka omawia literaturowy stan wiedzy na temat zaangażowania kolistych RNA w procesy związane z każdą z tych 10 flagowych cech nowotworów. Doktorantka świadomie zaznacza, że lista tych procesów nie wyczerpuje potencjalnego katalogu ról, jakie koliste RNA prawdopodobnie pełnią w procesie powstawania i progresji nowotworów. Stąd istotne jest dalsze zgłębianie ich roli, szczególnie w przypadku nowotworów, dla których obecnie stosowane metody leczenia okazują się nieskuteczne. Wprowadzenie zamyka omówienie stanu wiedzy na temat udziału kolistych RNA w rozwoju GBM.

Wprowadzenie dowodzi dobrego opanowania przez Doktorantkę ogólnej wiedzy teoretycznej w dziedzinie, której dotyczy praca. Po lekturze wprowadzenia przypuszczam, że Doktorantka posiada zdolności dydaktyczne i mam nadzieję, że efektywnie je wykorzystuje.

Z drobnych uwag, w pracy stosunkowo często pojawia się określenie "ogromny". Choć nie jest to określenie precyzyjne naukowo, nie sposób odmówić zasadności jego użycia w odniesieniu np. do heterogenności nowotworów, czy potencjału proliferacyjnego agresywnych nowotworów. Zakładam, że tak częste użycie słowa „ogromny” wynika z ogromnego właśnie zaangażowania Doktorantki w prowadzone badania.

Materiały i metody

Opis ten jest obszerny, klarowny i nie budzi wątpliwości. Dowodzi, że Doktorantka opanowała bardzo szeroki wachlarz metod i technik badawczych (ich mnogość jest imponująca) oraz opanowała umiejętność solidnej dokumentacji przeprowadzonych badań. Jedyny aspekt, który można by poddać dyskusji, to wybór kontroli do oceny ekspresji miRNA. Należę do grona zwolenników wykorzystywania odpowiednio wytypowanych kontrolnych miRNA w badaniach ekspresji tych cząsteczek.

Z drobnych uwag, w opisie parametrów sekwencjonowania RNA nie znajduję informacji, jaka była założona liczba odczytów na pojedynczą próbkę.

Cele pracy są jasno sformułowane. Jako cel główny pracy obrano *"szczegółowe zbadanie profilu ekspresji kolistych RNA i transkryptów RBP w GBM oraz próba określenia ich roli w rozwoju oraz progresji tego nowotworu."* Dodatkowym celem była *„identyfikacja oddziaływań między circRNA, RBP i miRNA."* Ponadto zdefiniowano trzy cele szczegółowe:

1. *Określenie profilu ekspresji kolistych RNA w glejaku wielopostaciowym – identyfikacja cząsteczek o potencjale diagnostycznym, prognostycznym i terapeutycznym.*
2. *Poszukiwanie funkcji wybranych kolistych RNA w glejaku wielopostaciowym.*
3. *Badanie oddziaływania między białkami wiążącymi RNA a kolistymi RNA.*

Realizacja celów 1 i 2 sama w sobie stanowiłaby materiał na solidny doktorat. Tymczasem w pracy postawiono dodatkowy cel-badanie oddziaływań między kolistymi RNA a białkami wiążącymi RNA. W mojej ocenie, wszystkie cele pracy zostały zrealizowane.

Wyniki

Zakres przeprowadzonych badań był bardzo szeroki i nie ograniczał się jedynie do charakterystyki kolistych RNA. Zasadnicze elementy pracy (choć nie wymieniam tu wszystkich ze względu na mnogość użytych technik) stanowiło sekwencjonowanie transkryptomu RNA w próbkach pacjentów i w liniach komórkowych GBM, celem określenia globalnego profilu ekspresji kolistych RNA oraz ekspresji ich liniowych odpowiedników.

W wyniku sekwencjonowania RNA i określenia profilu ekspresji kolistych RNA, zidentyfikowano koliste RNA, które nie były do tej pory raportowane w żadnej z dostępnych baz danych, stanowiły one 26% wszystkich kolistych RNA w tym badaniu. Stanowi to oryginalny wkład w rozwój wiedzy na temat tej klasy RNA w GBM i w zdrowym mózgu.

Ważnym elementem pracy była analiza korelacji ekspresji transkryptów kolistych i liniowych. Analizowano też ekspresję białek wiążących RNA (RBP) oraz korelację ekspresji kolistych RNA i transkryptów RBP, z uwzględnieniem predykcji miejsc oddziaływania tych cząsteczek. Jest to ważny poznawczo aspekt pracy, ze względu na nadal ograniczoną wiedzę na temat roli białek wiążących RNA w biogenezie kolistych RNA oraz na temat roli kolistych RNA w regulacji dostępności, a zatem aktywności białek RBP. Ponadto przeprowadzono predykcję miejsc wiązania dla miRNA w kolistych RNA, co wiąże się z jeszcze jedną z wielu biologicznych funkcji kolistych RNA, jaką jest regulacja dostępności miRNA poprzez ich tzw. *sponging*.

W dalszej części pracy skupiono się na dwóch kolistych RNA (circATXN10 i circFAM188A), w przypadku których przeprowadzono nadekspresję z wykorzystaniem wektorów ekspresyjnych i obniżenie ekspresji z użyciem shRNA. Co ważne, choć oba koliste RNA wykazywały w GBM obniżony poziom ekspresji w stosunku do zdrowego mózgu, w badaniach wykorzystano nie tylko podejście typu "*gain of function*", ale również "*loss of function*", co pozwala z większą pewnością wnioskować o roli tych kolistych RNA w GBM.

Następnie badano efekty funkcjonalne zmian ekspresji tych kolistych RNA, z użyciem licznych testów, odpowiednio dobranych do zweryfikowania hipotezy o postulowanej funkcji każdego z badanych kolistych RNA: test zarastania rany i test xCELLigence – oba dla oceny tempa migracji komórek, test formowania sfer dla oceny tempa inwazji komórek, ocenę przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego, ocena przebiegu cyklu komórkowego oraz analiza ekspresji pod wpływem hodowli w warunkach hipoksji.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że w badaniach funkcjonalnych nie ograniczono się do wykorzystania linii GBM, ale wyprowadzono z nich sfery, które lepiej niż komórki adherentne odzwierciedlają strukturę guza i stanowią lepszy model do badaniach procesów zachodzących w nowotworze. W tych strukturach określono poziom ekspresji wybranych kolistych RNA i ich liniowych odpowiedników oraz określono poziom ekspresji genów, będących markerami macierzystości komórek, dla potwierdzenia wzbogacenia sfer w komórki macierzyste. To tylko jeden z przykładów pokazujących, jak dogłębne i dociekliwe są badania przeprowadzone przez Doktorantkę. Nie zadowala się prostymi rozwiązaniami, sięgając po lepszy, choć jak się domyślam trudniejszy w pracy model badawczy. Ponadto, na poszczególnych etapach badań, Doktorantka dogłębnie weryfikuje uzyskane wyniki poprzez zastosowanie adekwatnych metod. W tym przypadku sprawdza, czy ma w istocie do czynienia z modelem badawczym cechującym się wzbogaceniem w komórki macierzyste. Systematyczna weryfikacji na poszczególnych etapach prowadzonych badań, świadczy o dużej świadomości i dobrym opanowaniu umiejętności planowania procesu badawczego.

Wśród najważniejszych wyników należy podkreślić fakt potwierdzenia wysokiej molekularnej heterogenności guzów GBM, fakt udowodnienia udziału circATXN10 oraz circFAM188A w procesach związanych z progresją guza oraz fakt wykazania wpływu RBP na biogenezę kolistych RNA. Ponadto w oparciu o profil ekspresji RBP zaproponowano nową klasyfikację molekularną GBM. Opisując część wyników dotyczącą profilu ekspresji RBP i kolistych RNA w GBM, Doktorantka słusznie dostrzega ich potencjał translacyjny. Mogą one stanowić punkt wyjścia do dalszych pogłębionych analiz nad rolą tych czynników w rozwoju tego nowotworu, co w przyszłości może przysłużyć się rozwojowi nowych metod terapeutycznych.

Za bardzo cenną analizę, prócz określenia różnicowej ekspresji kolistych RNA między GBM a zdrowym mózgiem, uważam analizę różnicową między próbkami guzów pierwotnych i wtórnych. Liczba kolistych RNA różnicujących guzy wtórne i pierwotne jest zaskakująco mała - jak można to interpretować? Jestem ciekawa, czy ten kierunek badań będzie kontynuowany.

Opis przeprowadzonych eksperymentów świadczy nie tylko o ich rozmachu, ale również o dobrym planowaniu i wykorzystywaniu możliwości płynących z poszczególnych kroków badawczych. Przykładem jest eksperyment typu "*pulldown*", który nie tylko pozwolił na potwierdzenie interakcji formy liniowej i kolistej ATXN10, ale również stanowił punkt wyjścia do przeprowadzenia analizy spektrometrii mas i identyfikacji białek, które z formą kolistą i liniową wchodzi w interakcję. Podobnie, po wyciszeniu liniowej i kolistej formy ATXN10 wykonano nie tylko eksperymenty funkcjonalne, ale również sekwencjonowanie RNA, dla uzyskania pełniejszego wglądu w procesy molekularne zachodzące pod wpływem zmian poziomów obu form transkryptów. Takie pełne wykorzystanie możliwości danego eksperymentu, świadczy o wspomnianej już dociekliwości, dobrej organizacji i umiejętnym planowaniu badań.

Na podkreślenie zasługuje też fakt, że w przypadku wielu eksperymentów, Doktorantka zastosowała więcej niż jedną metodę analizy, jak w przypadku badania tempa migracji komórek (test zarastania rany i test xCELLigence). Dowodzi to solidności i dociekliwości, co jest niezwykle pożądaną cechą w badaniach naukowych.

Uzyskane wyniki badań są dobrze udokumentowane w postaci klarownych i dobrze opisanych rycin.

Z drobnych uwag, w części wyniki, przydałaby się prezentacja tabelaryczna/graficzna statystyk dotyczących ilości i jakości surowych odczytów z RNA-seq, średniej liczby uzyskanych odczytów na próbkę oraz wykresy prezentujące dopasowanie odczytów do poszczególnych klas RNA. Przy wartościach RIN powyżej 7 nie wątpię, że jakość uzyskanych odczytów była bardzo dobra, jednak taki podrozdział, prezentujący w sposób syntetyczny dane dotyczące jakości sekwencjonowania, byłby cennym wstępem do prezentacji wyników zasadniczych analiz.

Na pochwałę zasługuje sposób opisu wyników - poszczególne podrozdziały opisujące wyniki opatrzone są krótkim akapitem wprowadzającym, prezentującym teoretyczne podstawy do przeprowadzenia omawianych eksperymentów. Nie jest to element wymagany - część Wyniki mogłaby być "surowym raportem" uzyskanych rezultatów, ale opisy te stanowią o dodatkowej wartości tej dysertacji, która może służyć jako cenny zasób wiedzy dla osób planujących podobne badania.

Dyskusja

Ta część pracy dowodzi umiejętności krytycznego oglądu uzyskanych wyników w świetle dostępnych danych literaturowych. Ważnym aspektem jest umiejętność omówienia poszczególnych wyników z podkreśleniem ich znaczenia na tle dotychczasowego stanu wiedzy, a ściślej rzecz biorąc na tle dotychczasowych luk w wiedzy na temat kolistych RNA w GBM, czy oddziaływań kolistych RNA z RBP. Taki sposób prezentowania wyników wydaje się oczywisty, jednak nie zawsze jest praktykowany, a pozwala podkreślić innowacyjność i znaczenie uzyskanych wyników. Co ważne, umiejętność prezentowania wyników swoich badań w kontekście tzw. '*research gaps*', jest

niezwykle cenne dla publikowania i aplikowania o projekty grantowe. Świadczy to o dużej dojrzałości naukowej Doktorantki.

Bardzo cennym elementem dyskusji jest stawianie hipotez, wynikających z analizy wyników własnych w kontekście danych literaturowych. Świadczy to o umiejętnościach analitycznych Doktorantki i głębokim zrozumieniu sensu pracy naukowej, gdzie uzyskane wyniki stanowią odpowiedź na zadane pytania, lecz jednocześnie generują kolejne znaki zapytania i stają się przyczynkiem dalszych badań. Przykładem jest hipoteza dotycząca roli obu form transkryptów ATXN10- kolistej i liniowej- w rozwoju GBM poprzez oddziaływania z określonymi RBP, ale również roli we wzajemnej regulacji obu typów transkryptów.

Ze względu na mnogość przeprowadzonych eksperymentów służących badaniu wzajemnych korelacji ekspresji formy kolistej i liniowej ATXN10, cennym elementem dyskusji jest Tabela 27, która podsumowuje wyniki eksperymentów dotyczących wyciszania i nadekspresji formy kolistej i liniowej w liniach komórkowych adherentnych i w wyprowadzonych sferach oraz ich wpływu na zmieniający się poziom formy liniowej i kolistej.

W podsumowaniu części dyskusji dotyczącej transkryptów ATXN10, Doktorantka stwierdza, że liniowa forma ATXN10 charakteryzuje się działaniem supresorowym, a kolista – onkogennym oraz, że działanie formy liniowej jest prawdopodobnie działaniem bezpośrednim, zaś działanie formy kolistej- pośrednim- poprzez odwrotnie skorelowany wpływ na ekspresję formy liniowej. Doskonałym uzupełnieniem tej części dyskusji jest zaproponowany przez Doktorantkę schemat potencjalnego oddziaływania obu form transkryptów.

Oddzielną część dyskusji poświęcono omówieniu wyników dotyczących circFAM188A. Ponieważ wykazano istnienie miejsc wiązania w tym kolistym RNA dla miR-1238 oraz miR-576, ze względu na postulowaną w literaturze rolę miR-1238 w kształtowaniu lekooporności oraz wykazany w ramach tej pracy doktorskiej zwiększony poziom tego miRNA w tkankach GBM, przeprowadzono badanie jego interakcji z kolistą formą FAM188A. Następnie omówiono wyniki eksperymentu typu *'pulldown'*, który pozwolił na wykazanie bezpośredniego oddziaływania circFAM188A z badanym miRNA. Potwierdzono oczekiwane zmiany poziomu ekspresji miRNA pod wpływem zmian ekspresji circFAM188A i w dalszej części dyskusji omówiono wyniki przeprowadzonych eksperymentów w warunkach hipoksji. Umiejętnie omówiono wyniki tych badań w kontekście chemiooporności w GBM, związanej z niedoborem tlenu w mikrośrodowisku guza i w kontekście właściwości komórek macierzystych, które w tych warunkach hipoksji nabierają fenotypu agresywnego.

Ze względu na doniesienia literaturowe o wydzielaniu miR-1238 w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych, w pracy określono poziom circFAM188A i miR-1238 w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych, wydzielanych do medium hodowlanego. Pozwoliło to postawić hipotezę o regulacji sekrecji miR-1238 przez circFAM188A. Jest to kolejny dowód na rozmach prowadzonych badań, dociekliwość Doktorantki oraz zdolność do stawiania nowych hipotez w oparciu o dane literaturowe i analizę własnych wyników. Ważnym punktem tej części dyskusji jest omówienie potencjalnego znaczenia miR-1238 i circFAM188A wydzielanych do pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, jako cząsteczek o potencjalnym znaczeniu diagnostycznym. Doktorantka dostrzega potencjał translacyjny wyników swoich badań, jednocześnie słusznie zauważa wstępny charakter tych obserwacji i konieczność dalszych (co ważne, konkretnie wymienionych z nazwy) analiz, które należałoby przeprowadzić. Świadczy to o dużej dojrzałości w krytycznej ocenie znaczenia uzyskanych wyników i jednocześnie o dobrej orientacji w dostępnych technikach badawczych, które można wykorzystać w kolejnych krokach. Również tę część dyskusji podsumowuje schemat przedstawiający propozycję potencjalnej interakcji między circFAM188A i miR-1238. Umiejętność proponowania potencjalnych mechanizmów biologicznych, w oparciu o wyniki własnych badań, jest bardzo cenna.

Kolejna część dyskusji, to omówienie uzyskanych wyników dotyczących analizy wpływu RBP na biogenezę kolistych RNA. Ponieważ w pracy doktorskiej skupiono się na badaniu kolistych RNA o obniżonym poziomie

ekspresji, Doktorantka podjęła próbę określenia przyczyn obniżonego poziomu tych cząsteczek, poprzez badanie związku RBP z procesem biogenezy kolistych RNA. Do tego celu wykorzystała zasoby dostępnych baz danych i określiła miejsca wiązania dla RBP w regionach flankujących circATXN10 oraz circFAM188A. To kolejny przykład rozmachu, dociekliwości, dobrego planowania i wykorzystania możliwości przeprowadzonych eksperymentów. W ten sposób zidentyfikowała białka FUS oraz EIF4A3 jako wspólne dla obu kolistych RNA-potencjalnie związane z ich biogenezą. Ponieważ w toku dalszych eksperymentów Doktoranta wykazała, że zmiany poziomu białka FUS wpływają na poziom ekspresji obu badanych kolistych RNA, dalsza część dyskusji poświęcona jest omówieniu roli białek FUS w różnych nowotworach w odniesieniu do wyników badań własnych.

W dyskusji więcej uwagi można było poświęcić zaproponowanej klasyfikacji GBM do podtypów molekularnych opartych o ekspresję transkryptów RBP. Domyślam się, że przy stosunkowo niewielkiej liczbie badanych próbek (choć i tak znacznej, biorąc pod uwagę charakterystykę nowotworu) trudno o analizy potencjalnego znaczenia prognostycznego zaproponowanej klasyfikacji. Jednak fragment dyskusji opisujący RBP, które grupowały próbki do 2 lub 3 klas, mógłby zostać rozwinięty i zawierać opis potencjalnego, postulowanego znaczenia takiego grupowania do zaledwie 2-3 klas.

Wnioski i perspektywy

Doktorantka w 5 punktach podsumowuje wnioski z przeprowadzonych badań. Pomimo dużej ilości uzyskanych wyników, Doktorantka zdołała trafnie zidentyfikować najistotniejsze z nich i sformułować najważniejsze wnioski. Jednocześnie dostrzega złożoność badanych zagadnień związanych z ekspresją kolistych RNA, ich znaczeniem w rozwoju GBM, złożoność procesów związanych z regulacją ich biogenezy oraz wagę wyzwań jakie nadal stoją przed badaczami zaangażowanymi w ten obszar badań nad niekodującymi RNA i ich znaczeniem w biologii nowotworów.

PYTANIA do Doktorantki

1. Czy oporność na temozolomid ma charakter pierwotny, czy pojawia się wtórnie- jest nabywana w trakcie leczenia?
2. Jaki jest stan zaawansowania badań dotyczących innowacyjnych metod leczenia GBM. Jakie są perspektywy dostępności tych innowacyjnych metod dla pacjentów w Europie, w Polsce?
3. Heterogenność (na poziomie pojedynczego nowotworu) jest nierozzerwalnie związana ze zjawiskiem ewolucji klonalnej, co stanowi jedną z cech flagowych nowotworów. W jaki sposób skomentowałaby Pani związek heterogenności, z ewolucją klonalną i wyzwaniem dla terapii?
4. Pytanie dotyczy klasyfikacji GBM, zaproponowanej przez Brennana i wsp., opartej o profil metylacji DNA. Czy klasyfikacja ta opiera się na globalnym profilu metylacji? Ile klas wydzieliła, jak najogólniej można określić związek metylacji DNA z prognozą GBM, wg. tej klasyfikacji?
5. Jaka była liczba sparowanych odczytów RNA-seq na próbkę?
6. Zwraca uwagę niewielka różnica w profilu ekspresji circRNA jak również w profilu ekspresji RBP między guzami pierwotnymi i wtórnymi. Jak można to interpretować?

Podsumowanie recenzji

Zakres przeprowadzonych badań jest bardzo szeroki, z wykorzystaniem wielu technik molekularnych i funkcjonalnych testów *in vitro*, jak również z wykorzystaniem metod analiz wysokoprzepustowych. Na uwagę zasługuje dość duża i różnorodna (guzy pierwotne i wtórne) liczba analizowanych próbek. Biorąc pod uwagę

rodzaj badanej tkanki i z pewnością nietatwe jej pozyskanie, zgromadzenie takiego materiału było samo w sobie dużym sukcesem. Zakres i złożoność badań oraz bogaty materiał badawczy świadczą o dobrych umiejętnościach planowania i organizacji złożonego projektu, dobrej współpracy z osobami wykonującymi analizy wysokoprzepustowe i, jak przypuszczam, o doskonałej współpracy z Promotorką oraz o dużym wsparciu z jej strony.

Uważam, że znaczenie wyników dostarczonych w toku realizacji badań Doktorantki stanowi ważny wkład w obszar wiedzy, jakim są koliste RNA w GBM. Zakres przeprowadzonych analiz i ich rozmach, w moim odczuciu wykraczają poza standardowe oczekiwania wobec pracy doktorskiej. Doktorantka swą dysertacją dowodzi bardzo dobrego przygotowania do samodzielnej pracy badawczej, bardzo dobrej organizacji i sprawności w prowadzeniu badań, sprawności w ich opisywaniu i dokumentacji. Dowodzi trafności obserwacji, interpretacji i dyskusji wyników badań, świetnej orientacji w literaturze tematu oraz wysokich umiejętności prezentacji wyników badań.

Praca napisana jest nienagannym stylem, bardzo starannie zredagowana, opatrzona dobrymi i klarownie opisanymi ilustracjami. Wszystko to świadczy o profesjonalizmie i szacunku do czytelników, którymi, mam taką głęboką nadzieję, będą nie tylko recenzenci pracy. Jestem przekonana, że ta dysertacja może służyć koleżankom i kolegom ze środowiska naukowego jako źródło wiedzy lub, co najmniej, jako wzór świetnie przygotowanej rozprawy.

Warto podkreślić, że przy wyraźnym ogromnym zaangażowaniu Doktorantki w pracę badawczą, co wyczuwa się podczas lektury tej dysertacji, Doktorantka daleka jest od naiwności, czy nadmiernego optymizmu w interpretacji wyników własnych badań. Takie połączenie zaangażowania i entuzjazmu z krytycznym oglądem doskonale rokuje na dalszy rozwój ścieżki naukowej Doktorantki.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) oraz w Sposobie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (uchwała Rady Naukowej ICHB PAN nr 56/2023/Internet z dnia 29 marca 2023 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie **mgr Julii Latowskiej-Łysiak** do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Ze względu na wyjątkową wartość merytoryczną rozprawy, wnioskuję o jej wyróżnienie.



Signed by /
Podpisano przez:

Małgorzata
Agnieszka
Dawidowska

Date / Data:
2024-05-08 16:18

dr hab. Małgorzata Dawidowska