



prof. dr hab. Mikołaj Olejniczak

Pracownia Biochemii RNA

20 maja 2026, Poznań

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anastasii Zaremby
zatytułowanej "Bioinformatics approaches to the analysis of small non-coding
RNAs in *Schmidtea mediterranea* "**

Praca doktorska Pani mgr Anastasii Zaremby została wykonana pod opieką dr hab. Pauliny Jackowiak, prof. IChB, w Pracowni Analiz Pojedynczych Komórek Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Tematyka pracy doktorskiej dotyczy funkcji małych niekodujących RNA (sncRNA) w mechanizmach regeneracji u wirków *Schmidtea mediterranea*. Praca doktorska dotyczy strony informatycznej tego kierunku badań, podczas gdy inne osoby odpowiadały za jego część eksperymentalną. Celem pracy było utworzenie oraz optymalizacja narzędzi bioinformatycznych do adnotacji genomu oraz do analizy danych transkryptomicznych w tym słabo jeszcze poznanym organizmie modelowym, po to aby poznać w jaki sposób zmiany w poziomach sncRNA korelują się z etapami procesów regeneracyjnych w różnych liniach komórkowych.

W ponad 40 stronicowym wstępie literaturowym Doktorantka umiejętnie przedstawiła najważniejsze motywy składające się na jej projekt doktorski prowadząc czytelnika od przedstawienia ról różnych klas niekodujących RNA, poprzez omówienie budowy i znaczenia organizmu modelowego *S. mediterranea*, aż do podsumowania stanu wiedzy o roli małych niekodujących RNA w procesach regeneracyjnych wypływka i do omówienia zaawansowania zasobów genomowych i bioinformatycznych dla *S. mediterranea*. Wstęp nie jest licznie ilustrowany, jednak nie sprawia to kłopotów w odbiorze ze względu na bardzo logiczny, uporządkowany sposób przedstawienia treści od omówienia poszczególnych elementów składających się na koncepcję projektu z osobna, aż do ukazania w jaki sposób łączą się one razem jednocześnie nakreślając tło badań prowadzonych w pracy. Biorąc pod uwagę także fakt, że wstęp zawiera obszernie podsumowania danych literaturowych dotyczące m.in. roli poszczególnych klas sncRNA w fizjologii *S. mediterranea*, a szczególnie w procesach regeneracyjnych, można

zapropnować, że mógłby on być podstawą do przygotowania interesującej publikacji przeglądowej.

Podobnie jak wstęp literaturowy również prace badawcze Doktorantki zostały zaplanowane, wykonane i przedstawione w bardzo spójny i logiczny sposób. Dla przeprowadzenia analiz projektu najpierw konieczne było przygotowanie dokładnej adnotacji genomu *S. mediterranea*. Chociaż analiza ta była wykonana częściowo wcześniej, jednak przygotowane przez Doktorantkę nowe narzędzie do adnotacji pozwoliło jej na identyfikację dużej liczby nowych sekwencji odpowiadających kodującym i niekodującym RNA. Dzięki osiągnięciu tego celu Doktorantka mogła wykonać następne zadanie, którym była analiza zmian w poziomach sncRNA podczas procesu regeneracji u wypławka z wyciszeniem genu RNazy ELAC2. Była to analiza wyników sekwencjonowania dla całego organizmu. Opracowanie wyników tego badania pozwoliło Doktorantce na identyfikację niekodujących RNA, których poziom został zmieniony przez wyciszenie ELAC2, a także sekwencji kodujących, których ekspresja została zmieniona. Ponieważ wśród zidentyfikowanych sncRNA szczególnie interesujące okazały się fragmenty tRNA^{Gly} logicznym następnym etapem było zbadanie metodami bioinformatycznymi możliwych funkcji tego fragmentu RNA w regulacji ekspresji genów. Spójną konsekwencją powyższej analizy RNAseq było także zagadnienie podjęte w ostatnim etapie badań jakim było opracowanie narzędzi do analizy bioinformatycznej zmian w transkryptomie na poziomie linii rozwojowych komórek podczas regeneracji. Ten szeroki zakres narzędzi bioinformatycznych skonstruowanych przez Doktorantkę pozwolił na odkrycie przez nią w badanych zestawach danych eksperymentalnych ważnych wniosków dotyczących udziału sncRNA, w szczególności fragmentów pochodzących z tRNA, w regulacji procesu regeneracji u *S. mediterranea*.

Głównym obiektem zainteresowania Doktorantki w tym projekcie były małe niekodujące RNA. Uzyskane przez nią dane wskazują, że u *S. mediterranea* jest to grupa dość różnorodna, do której oprócz klasycznych sncRNA (miRNA, piRNA) Doktorantka zaliczyła także fragmenty pochodzące z innych cząsteczek, m.in. z tRNA, mRNA, lncRNA. Pierwsze pytanie, na które chciałbym poprosić Doktorantkę o odpowiedź podczas obrony, dotyczy tego, czy uzasadnione jest jednoznaczne traktowanie fragmentów pochodzących z mRNA czy z innych cząsteczek jako małych niekodujących RNA, czy np. fragmenty mRNA zawierające region startu translacji lub krótki uORF nie mogłyby nadal być aktywne translacyjnie? Chciałbym też zapytać, czy znane są u *S.*



mediterranea przykłady cząsteczek uznawanych początkowo za niekodujące RNA, a które zawierają jednak krótkie, funkcjonalne ramki odczytu kodujące małe białka? Takie cząsteczki poznano w innych organizmach. Jestem też ciekaw, czy badania Doktorantki wykazały obecność potencjalnych niekodujących RNA w mitochondriach *S. mediterranea*?

Podsumowując, wyniki pracy Pani mgr Anastasii Zaremby mają ogromne znaczenie dla uzyskania zrębu danych badawczych opisujących transkryptom *S. mediterranea*, a także dla utworzenia zestawu narzędzi bioinformatycznych, które pomogą innym badaczom w poznawaniu tego organizmu. Zadanie, które wykonała Doktorantka było szczególnie trudne, ponieważ dotyczyło organizmu, który na poziomie transkryptomicznym jest słabo poznany i w związku z tym Doktorantka często musiała przecierać zupełnie nowe ścieżki. Dowodem na sukces Doktorantki w podjęciu tego wyzwania jest też fakt, że jest ona pierwszą autorką publikacji dotyczącej tematyki jej doktoratu w *Genomics* (wydawnictwo Elsevier) oraz dalszą autorką w innej pracy eksperymentalnej w *Frontiers in Cell and Developmental Biology* i drugą autorką w pracy przeglądowej w *Genes and Diseases* (także Elsevier), które dotyczą badań w *S. mediterranea*.

Przedstawiona 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 Pani mgr Anastasii Zaremby do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauk biologicznych. Jednocześnie ze względu na wysoką wartość naukową uzyskanych przez nią wyników stanowiących niezwykle duży wkład w poznanie procesów regeneracji w ważnym organizmie modelowym wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Mikołaj Olejniczak