

Poznań, 17.05.2019

ul. Strzeszyńska 32
60-479 Poznań
tel. +48/61/657 91 00
fax +48/61/823 32 35
e-mail: igcz@man.poznan.pl

www.igcz.poznan.pl

dr hab. Maciej Giefling, prof. PAN
Kierownik Zakładu Genetyki Nowotworów
e-mail: gieflingm@man.poznan.pl

Recenzja Osiągnięcia Naukowego pt. „Rola mikroRNA w patogenezie nowotworów hematologicznych” oraz ocena aktywności naukowej w tym osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego w postępowaniu habilitacyjnym dr Agnieszki Dzikiewicz-Krawczyk

1) Życiorys naukowy

Dr Agnieszka Dzikiewicz-Krawczyk jest absolwentką dwóch wydziałów Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. W roku 2005 obroniła pracę magisterską zatytułowaną: „*Genetyka a określanie tożsamości. Rozwój genetyki w społecznej świadomości*” przygotowaną na Wydziale Nauk Społecznych. Następnie jej zainteresowania naukowe skupiły się na genetyce *sensu stricto*, co zaowocowało w 2007 roku obroną pracy magisterskiej zatytułowanej: „*Mechanizm NMD w mutantach Arabidopsis thaliana o obniżonej ekspresji genów ATCBP20 i ATCBP80*” na Wydziale Biologii. Stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna uzyskała w 2012 roku w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu gdzie w latach 2008-2013 zatrudniona była na stanowisku biologa. Rozprawa doktorska zatytułowana: „*Badania funkcjonalne heterozygotycznych mutacji genu NBN*”, której promotorem był Prof. dr hab. Jerzy Nowak została wyróżniona przez Radę Naukową Instytutu. Następnie po uzyskaniu stopnia doktora, do dnia dzisiejszego jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w Instytucie Genetyki Człowieka PAN. W latach 2015-2016 przebywała na stażu podoktorskim w renomowanym ośrodku badawczym w University Medical Center Groningen w Holandii słynącym z badań nad chłoniakami.

2) Ocena Osiągnięcia Naukowego

Osiągnięcie Naukowe przedstawione do recenzji stanowi cykl pięciu prac opublikowanych w latach 2014-2018 pod zbiorczym tytułem: „*Rola mikroRNA w patogenezie nowotworów hematologicznych*”. W czterech z nich habilitantka jest wiodącą autorką. Wszystkie są pracami z listy filadelfijskiej o wysokim i bardzo wysokim współczynniku oddziaływania IF w zakresie 4,069-10,023. Sumaryczny IF Osiągnięcia Naukowego to 29,216 co wybitnie świadczy o wadze badań prowadzonych przez habilitantkę. Na uwagę zasługuje także fakt, że prace stanowiące cykl zostały przygotowane na przestrzeni zaledwie czterech lat, co jest niebagatelnym osiągnięciem zważywszy na zakres badań i mnogość wykorzystanych technik laboratoryjnych. Dwie prace wchodzące w skład Osiągnięcia Naukowego zostały przygotowane w Instytucie Genetyki Człowieka PAN natomiast pozostałe trzy są owocem dwuletniego stażu podoktorskiego habilitantki w University Medical Center Groningen w Holandii. Cykl cechuje duża spójność tematyczna, wszystkie prace dotyczą znaczenia miRNA w chorobach hematologicznych człowieka, co świadczy o konsekwentnym realizowaniu zainteresowań naukowych przez dr Dzikiewicz-Krawczyk.

W ocenianym cyklu publikacji zarysowuje się ewolucja podejścia naukowego habilitantki. W pierwszej pracy eksperymentalnej zatytułowanej: „*Polymorphisms in microRNA target sites modulate risk of lymphoblastic and myeloid leukemias and affect microRNA binding*” skupiono się na podstawowej analizie polimorfizmów w miejscach wiązania miRNA w kontekście ryzyka białaczki za pomocą sond TaqMan i dość już archaicznej techniki PCR-RFLP. Pomimo niezaawansowanej metodyki, badania przyniosły niezwykle ciekawe wyniki w postaci zidentyfikowanych markerów ryzyka białaczek. Wykazano między innymi powiązanie polimorfizmów *TLX1_rs2742038* i *ETV6_rs1573613* ze zwiększonym ryzykiem ALL oraz dwóch kolejnych polimorfizmów *ARHGAP26_rs187729* oraz *IRF8_rs10514611* ze zwiększonym ryzykiem CML. Ponadto doświadczenie zdobyte w trakcie prowadzenia wyżej opisanych badań zaowocowało także publikacją zatytułowaną: „*MicroRNA-binding site polymorphisms in hematological malignancies*”, w której habilitantka nie tylko przedstawia aktualny przegląd literatury przedmiotu, ale co w mojej opinii istotniejsze, proponuje schemat kompleksowego podejścia do identyfikacji i charakterystyki polimorfizmów powiązanych z działaniem miRNA w kontekście patogenezy nowotworów. Habilitantka wytycza więc ścieżki dla innych badaczy prezentując zwięzły algorytm postępowania dla podobnych badań.

Wspomniana ewolucja podejścia naukowego uwidacznia się w kolejnej pracy pt. „*ZDHC11 and ZDHC11B are critical novel components of the oncogenic MYC-miR-150-MYB network in Burkitt lymphoma*” opublikowanej w prestiżowym czasopiśmie *Leukemia*,

gdzie habilitantka odchodzi od badania arbitralnie wybranych elementów genomu na rzecz całogenomowych, wysokoprzepustowych analiz w celu identyfikacji sieci interakcji w patogenezie chłoniaka Burkitta. Wyniki otrzymane w konsekwencji przeprowadzonych badań są doniosłe. Scharakteryzowano nową, onkogeną sieć interakcji, istotną dla przeżycia komórek nowotworowych, w której głównymi składnikami molekularnymi są MYC, miR-150, ZDHHC11, ZDHHC11B oraz MYB. Szczególnie opisana w omawianej publikacji rola „gabek” molekularnych, czyli transkryptów długich niekodujących RNA z genów *ZDHHC11* i *ZDHHC11B* w utrzymywaniu wysokiego poziomu onkogenego białka MYB zasługuje na uznanie, jako że w społeczności naukowej dopiero niedawno zwrócono uwagę na potencjalne znaczenie tego typu mechanizmów posttranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów w patogenezie nowotworów.

Rozwinięciem wyników otrzymanych w omówionej pracy jest kolejna publikacja wchodząca w oceniany cykl zatytułowana: „*Argonaute 2 RNA immunoprecipitation reveals distinct miRNA targetomes of primary Burkitt lymphoma tumors and normal B cells*”. Zastosowano tu globalne podejście do identyfikacji genów docelowych dla miRNA poprzez wymagającą technikę AGO2-RIP, łączącą immunoprecypitację z analizą mikromacierzową. Habilitantce udało się z powodzeniem zastosować daną technikę do badania mrożonych guzów pobranych od chorych z chłoniakiem Burkitta, co jest podejściem nowatorskim gdyż technikę zazwyczaj stosowano jedynie do materiału otrzymanego z linii komórkowych. Ponadto, badania przyniosły ciekawe wnioski na temat procesów regulowanych przez miRNA w chłoniaku Burkitta. Wykazano, że cząsteczki te odgrywają szczególną rolę w regulowaniu cyklu komórkowego jak również procesów związanych ze śmiercią komórki a więc procesów kluczowych dla patogenezy nowotworów demonstrując tym samym znaczenie miRNA w procesie nowotworowym. Konsekwencją tych odkryć było zarazem zaznaczenie potencjalnej roli w patogenezie chłoniaka Burkitta dwóch genów: *NEDD9* i *KAT7* dotychczas niewiązanych z tym chłoniakiem.

Ostatnią z prac wchodzących w skład Osiągnięcia Naukowego jest publikacja: „*MicroRNA high throughput loss-of-function screening reveals an oncogenic role for miR-21-5p in Hodgkin lymphoma*”. Habilitantka zastosowała w niej nowatorskie podejście badawcze, w którym wykorzystano bibliotekę lentiwirusową zawierającą znakowane GFP konstrukty na bazie wektora miRZIP w celu inhibicji 63 miRNA o potencjalnym znaczeniu w patogenezie chłoniaka Hodgkina i ostatecznie sekwencjonowaniu następnej generacji. Zastosowane podejście jest dla mnie ukoronowaniem umiejętności habilitantki w projektowaniu eksperymentu naukowego. Obrazuje zarazem rozwój habilitantki, która zaczyna od

planowania prostych, aczkolwiek zakończonych ciekawymi wynikami, eksperymentów tuż po uzyskaniu stopnia doktora do biegłego posługiwania się nowoczesnymi i wyrafinowanymi metodami badawczymi na progu samodzielności naukowej.

Przeprowadzona analiza wskazała miRNA-449a-5p, miRNA-625-5p, miRNA-let-7f-2-3p oraz miRNA-21-5p jako powiązane z procesem nowotworzenia, z których miRNA-21-5p wybrano do dalszych badań. Jakkolwiek powiązanie nadekspresji miRNA-21-5p z patogenezą chłoniaka Hodgkina nie jest odkryciem nowym i było już opisywane w kilku wcześniejszych publikacjach to jednak habilitantka poprzez dogłębne badania otrzymała niezwykle interesujące i ważne dla dziedziny rezultaty. Mianowicie wykorzystując wcześniej opisywane wyniki uzyskane techniką AGO2-RIP zidentyfikowała pulę genów potencjalnie regulowanych przez miRNA-21-5p. Interakcję miRNA-mRNA potwierdziła następnie eksperymentalnie dla dwóch genów: *PELII* i *BTG2*. Spośród nich na szczególną uwagę zasługuje gen *PELII*. Jest to ligaza odpowiedzialna za katalizę łańcuchów ubikwityny na lizynie 48 i 63. Jej fizjologiczną funkcją w szlaku sygnałowym NFκB jest naznaczenie podjednostki c-Rel do degradacji poprzez utworzenie łańcucha ubikwityny na lizynie 48. Stąd, w kontekście biologii chłoniaka Hodgkina, wysoka ekspresja miRNA-21-5p może znosić mechanizm hamujący degradację c-Rel i tym samym prowadzić do hiperaktywacji NFκB, kluczowego mechanizmu dla przeżycia neoplastycznych komórek w tymże chłoniaku. Tym samym habilitantka dokonała znaczącego odkrycia wykazując, że gen *PELII* jest dotychczas nieopisanym czynnikiem przyczyniającym się do konstytutywnej hiperaktywacji NFκB w klasycznym chłoniaku Hodgkina.

Podsumowując, Osiągnięcie Naukowe dr Agnieszki Dzikiewicz-Krawczyk to zbiór spójnych tematycznie publikacji o bardzo dużej wartości naukowej, w pełni spełniający wymogi do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

3) Ocena aktywności naukowej w tym osiągnięć naukowo-badawczych oraz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego

Osiągnięcia naukowo-badawcze

Dr Agnieszka Dzikiewicz-Krawczyk jest autorką 21 prac naukowych w tym 16 z listy filadelfijskiej, posiadających łączny współczynnik oddziaływania IF równy 67,651. Proporcja prac oryginalnych do przeglądowych jest prawidłowa. Po wyłączeniu prac wchodzących w cykl stanowiący Osiągnięcie Naukowe sumaryczny IF publikacji habilitantki wynosi 38,435 – jest więc na bardzo dobrym poziomie. Gorzej prezentuje się natomiast poziom cytowalności, który dla wszystkich prac wynosi 106 cytowań (96 bez autocytowań) i jest tym samym

relatywnie niski. Skutkuje to także przeciętnym współczynnikiem Hirscha równym 7. Jednak ze względu na wspomniany już uprzednio fakt, że habilitantka przygotowała cykl pięciu publikacji stanowiących Osiągnięcie Naukowe w bardzo krótkim czasie, relatywnie niska dotychczasowa cytowalność jest zrozumiała. Ze względu na wysoką wartość merytoryczną szczególnie ostatnich publikacji spodziewam się szybkiego wzrostu cytowań prac habilitantki w najbliższych latach.

Szczególne uznanie budzi natomiast niezwykle ważna umiejętność habilitantki, jaką jest zdobywanie funduszy na badania naukowe. Dr. Dzikiewicz-Krawczyk kierowała już pięcioma projektami badawczymi w tym tak prestiżowymi jak grant Sonata Narodowego Centrum Nauki czy grant First Team Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej. Zdobywanie finansowania dla tak wielu projektów badawczych przed osiągnięciem samodzielności naukowej jest imponujące i świadczy o dużej zdolności do stawiania ważnych hipotez badawczych i projektowania badań. Są to cechy właściwe najlepszym samodzielnym pracownikom nauki.

Pozostałą aktywność naukowo-badawczą, w tym udział w innych projektach niebędących głównym nurtem zainteresowań naukowych habilitantki czy aktywne uczestnictwo w międzynarodowych konferencjach naukowych, oceniam na w pełni adekwatną do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski

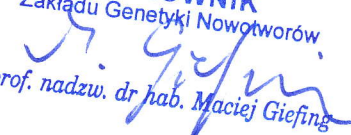
Dr Agnieszka Dzikiewicz-Krawczyk, jako pracowniczka instytutu PAN nie prowadzi systematycznych zajęć ze studentami. Jest więc zrozumiałe, że jej dorobek dydaktyczny jest umiarkowany. Tym bardziej godny uwagi jest fakt, że habilitantka dobrowolnie podejmuje działania o charakterze dydaktycznym takie jak prowadzenie zajęć praktycznych z biologii molekularnej podczas stażu podoktorskiego na Uniwersytecie w Groningen w Holandii. Zaznaczyć należy także duże zaangażowanie w opiekę nad studentami. W sumie habilitantka nadzorowała pracę pięciu magistrantów i dwóch doktorantów, w tym w jednym przewodzie doktorskim pełni rolę promotora pomocniczego. Habilitantka udziela się także jako recenzent manuskryptów dla szeregu czasopism naukowych oraz jako członek w zespołach eksperckich Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej i Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej. Warto podkreślić jakże istotne zaangażowanie w popularyzację nauki wśród dzieci i młodzieży poprzez udział w wydarzeniach organizowanych przez Stowarzyszenie Gen-i-Już przy Instytucie Genetyki Człowieka PAN czy Koło Naukowe Genetyki Medycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu. W dorobku habilitantki brakuje mi jedynie większego zaangażowania w działalność krajowych i międzynarodowych towarzystw

naukowych. Pomimo że dr Dzikiewicz-Krawczyk jest członkiem Polskiego Towarzystwa Biochemicznego od 2014 roku to jednak członkostwo w Polskim Towarzystwie Genetyki, Polskim Towarzystwie Genetyki Człowieka czy European Association for Cancer Research wydaje mi się bardziej zasadne. Uwaga ta nie ma jednak większego znaczenia dla mojej pozytywnej oceny dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego habilitantki.

4) Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawione do recenzji Osiągnięcie Naukowe zatytułowane: „*Rola mikroRNA w patogenezie nowotworów hematologicznych*” ma bardzo dużą wartość poznawczą i w znacznym stopniu przyczynia się do postępu reprezentowanej przez habilitantkę dziedziny nauki. Osiągnięcie Naukowe spełnia wszystkie wymogi niezbędne dla uzyskania przez habilitantkę stopnia doktora habilitowanego. Podobnie wysoko oceniam aktywność naukową w tym osiągnięcia naukowo-badawcze oraz dorobek dydaktyczny i popularyzatorski, które spełniają wszystkie wymogi niezbędne dla uzyskania przez habilitantkę stopnia doktora habilitowanego.

Z pełnym przekonaniem wnoszę o dopuszczenie dr Agnieszki Dzikiewicz-Krawczyk do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

KIEROWNIK
Zakładu Genetyki Nowotworów

prof. nadzw. dr hab. Maciej Giefing

Maciej Giefing