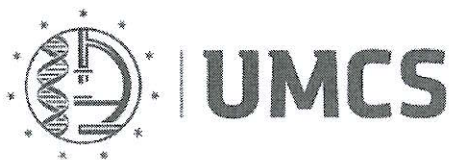


20 MAJ 2024



UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ W LUBLINIE
Wydział Biologii i Biotechnologii

Dr hab. Joanna Jakubowicz-Gil, prof. UMCS
Katedra Anatomii Funkcjonalnej i Cytobiologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie
ul. Akademicka 19
20-033 Lublin

Lublin, 10.05.2024

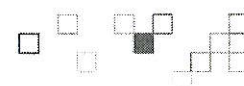
Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Aleksandry Soleckiej pt. „Regulacja inwazyjności, apoptozy i metabolizmu komórek glejaka wielopostaciowego przez Regnazę-2” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Anety Kaszy, prof. UJ w Zakładzie Biochemii Komórki Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Badania prezentowane w pracy doktorskiej były finansowane z projektu Opus 21 Narodowego Centrum Nauki pt. „Funkcja RNazy ZC3H12B w patofizjologii glejaka wielopostaciowego”

Ocena merytoryczna pracy

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska obejmuje dobrze zaplanowane i wykonane badania laboratoryjne, w których Autorka podjęła próbę scharakteryzowania roli białka Regnaza-2 w regulacji inwazyjności, metabolizmu i przeżywalności komórek glejaka wielopostaciowego (GBM). Wybór modelu badawczego uważam za trafny i bardzo istotny. Glejak wielopostaciowy należy bowiem do nowotworów o najwyższym, IV stopniu złośliwości według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Stanowi 10%-18% wszystkich guzów wewnątrzczaszkowych i 50%-60% nowotworów gleju gwiaździstego. Charakteryzuje się bardzo agresywnym przebiegiem, związanym z wysoką inwazyjnością, częstymi nawrotami oraz gwałtownym rozrostem, połączonym z niszczeniem przylegających zdrowych tkanek. Postęp choroby jest szybki, jakość życia niska, a średni czas przeżycia chorych nie przekracza 16 miesięcy. Mimo licznych prób stosowania nowych metod leczenia, postępu technik zabiegowych oraz radio- i chemioterapii, nie znaleziono dotąd skutecznej metody leczenia GBM. Naciekający rozrost guza uniemożliwia jego całkowitą resekcję. Ze względu na trudności związane



z przejściem leków przez barierę krew–mózg problematyczne jest dobranie odpowiedniej dawki chemioterapii. Dlatego też dokładne poznanie biologii glejaków oraz molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za ich wysoką inwazyjność i oporność wydaje się być bardzo istotne i konieczne.

W przedłożonej rozprawie, Doktorantka skoncentrowała swoje zainteresowania badawcze na Regnacie-2, enzymie należącym do białek wiążących RNA i odgrywającym ważną rolę w regulacji procesów związanych z progresją glejaków. Wykorzystując nowoczesne techniki eksperymentalne z zakresu genetyki, biologii molekularnej i komórkowej, jednoznacznie wykazała, iż podwyższony poziom Reg-2 hamuje migrację komórek nowotworowych, poprzez obniżanie poziomu i aktywności metaloproteiny 2. Po raz pierwszy zidentyfikowała transkrypt *G3BP1* jako substrat dla badanego enzymu, co wiąże się z obniżeniem ilości granul stresowych, odpowiedzialnych za ochronę komórek nowotworowych przed stosowaną chemioterapią i apoptozą. Co ciekawe, bezpośrednim substratem dla Reg-2 okazał się również transkrypt *BIRC5*, którego degradacja prowadzi do zwiększenia wrażliwości komórek na indukcję zaprogramowanej śmierci.

Za bardzo interesujące uważam badania nad metabolizmem komórek glejaka. Doktorantka wykazała, iż zahamowanie glikolizy prowadzi do fosforylacji i degradacji Regnacie-2, czemu towarzyszy wzrost poziomu mRNA *IL-6*, co z kolei przekłada się na zmiany funkcjonowania mitochondriów i ograniczenia dostępności energii pozyskiwanej na drodze fosforylacji oksydacyjnej.

Znaczącym osiągnięciem Doktorantki jest również zaprezentowanie możliwości wykorzystania konstruktów opartego na systemie CRISPRi do obniżania poziomu mRNA *Reg-2*.

Ocena struktury pracy

Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Soleckiej liczy 124 strony i składa się z sześciu głównych rozdziałów (Wstęp teoretyczny, Cele pracy, Materiały, Metody, Wyniki, Dyskusja). Wstęp poprzedza Wykaz najważniejszych skrótów. Pracę zamyka Podsumowanie wyników, Streszczenie w języku polskim i angielskim (Abstract), Wykaz rycin i tabel oraz Bibliografia. Układ pracy jest poprawny oraz zawiera typowy dla pracy badawczej podział treści. Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Solackiej została przygotowana bardzo starannie pod względem edytorskim. Praca jest przejrzysta, a cele badawcze zostały bardzo dobrze sformułowane. Wstęp jest obszerny, interesujący oraz zawiera wszystkie potrzebne informacje, które są niezbędne dla zrozumienia podjętej tematyki badawczej oraz właściwej interpretacji



otrzymanych rezultatów. Na pochwałę zasługuje fakt, że Doktorantka wzbogaciła rozprawę doktorską o ciekawe ryciny i tabele.

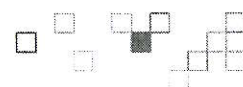
Materiały i Metody, w których Doktorantka opisuje wykorzystane do badań techniki, zostały przygotowane szczegółowo, co pozwala na odtworzenie doświadczeń z dużą dokładnością i powtarzalnością. Wyraźnie widać, że Autorka dobrze opanowała warsztat badawczy i dogłębnie zapoznała się z nowoczesnymi metodami analizy komórkowej i molekularnej. Warto podkreślić, że metodyka została trafnie dobrana do postawionych celów.

Jeśli chodzi o część eksperymentalną, jestem pod wrażeniem ilości oraz złożoności wykonanych badań biologicznych. Wyniki zostały opracowane bardzo starannie i dokładnie. Liczne ryciny ułatwiają ich zrozumienie i przeanalizowanie. W Dyskusji Doktorantka konfrontuje uzyskane wyniki z danymi literaturowymi, zachowując odpowiednią dozę krytycyzmu. Wnioski, podsumowujące uzyskane wyniki, zostały jasno sformułowane i odpowiadają wyznaczonym celom.

Uwagi

W trakcie analizy rozprawy zauważyłam, że pewne jej fragmenty wymagają korekty i wyjaśnienia.

1. Ponieważ modelem badawczym Doktorantki był glejak wielopostaciowy, wszystkie analizy powinny być wykonane na komórkach z tej grupy nowotworów. Sugerowałabym również poszerzenie badań o dodatkowe linie/hodowle pierwotne glejaka wielopostaciowego, w celu potwierdzenia uzyskanych zależności.
2. W teście rysy, analizy danych dokonywano po 48 godzinach inkubacji ze względu na powolny proces zarastania „rany” przez komórki U251-MG. W teście migracji w systemie Transwell, wykorzystującym komory Boydena komórki analizowano po 12 godzinach. Czym można wytłumaczyć tak znaczącą różnicę w intensywności migracji w tych dwóch metodach badawczych?
3. W rozdziale „Metody, Izolacja RNA” podano, że RNA pozyskiwano z linii komórkowych i tkanek. Jakie tkanki zostały wykorzystane do tego eksperymentu i skąd pochodziły? W pracy nie znalazłam odpowiednich informacji. Podobna uwaga dotyczy opisu wyników, w których Doktorantka porównuje zależności pomiędzy poziomem mRNA *Reg-2*, a *MMP2* w tkance glejaków wielopostaciowych i glejaków o niskim stopniu złośliwości (LGG). Na jakiej podstawie dokonano takiego podziału? Jakie rodzaje glejaków zostały sklasyfikowane jako LGG?



4. Angielski skrót bariery krew-mózg BBB został przetłumaczony jako „Brain-blood barrier”, a powinno być „Blood-brain barrier”
5. Doktorantka wielokrotnie użyła określenia „ekspresja białka”, podczas gdy ekspresji ulega gen kodujący określone białko

Mimo kilku nieścisłości oraz krytycznych uwag, które wskazałam z obowiązku Recenzentki, chciałabym podkreślić, że rozprawa doktorska przygotowana przez mgr Aleksandrę Solecką prezentuje bardzo wysoki poziom merytoryczny i naukowy, a jakość i dobór zastosowanych metod badawczych nie budzi zastrzeżeń. W ramach przedstawionej rozprawy Doktorantka w pełni zrealizowała założone cele badawcze.

Podsumowując, rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Soleckiej pt. „Regulacja inwazyjności, apoptozy i metabolizmu komórek glejaka wielopostaciowego przez Regnazę-2” spełnia warunki określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i stanowi znaczący wkład w dziedzinę nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Jest wartościowym dziełem z zakresu badań nad molekularnymi aspektami biologii ludzkich komórek glejaka wielopostaciowego oraz roli Regnazy-2 w regulacji procesów związanych z patofizjologią komórek GBM w aspekcie migracji, angiogenezy, metabolizmu i odpowiedzi na stres. Autorka wykazała umiejętność samodzielnego rozwiązywania postawionych zadań naukowych, dobre opanowanie metod badawczych oraz znajomość literatury. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki stanowią Jej oryginalne osiągnięcie i poszerzają wiedzę o roli białka Regnazy-2 jako potencjalnego supresora glejaka wielopostaciowego, co może mieć praktyczne zastosowanie w opracowaniu nowych strategii terapeutycznych.

Biorąc pod uwagę powyższe oraz uwzględniając bardzo wysoką ocenę merytoryczną rozprawy doktorskiej, jak również rangę rozwiązywanego problemu badawczego, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Aleksandry Soleckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wyróżnienie pracy doktorskiej stosowną nagrodą.

Kierownik Katedry

Dr hab. Joanna Jakubowicz-Gil, prof. UMCS

