Warszawa, 11.10.2017 r.

dr hab. Tomasz Sarnowski
Zakład Biosyntezy Białka
Instytut Biochemii i Biofizyki
Polskiej Akademii Nauk
Ul. Pawińskiego 5A
02-106 Warszawa

Recenzja pracy doktorskiej pt. ***Rola białka indukowanego przez monocytarne białko chemotaktyczne (MCPIP1) w ludzkich komórkach neuroblastoma***

Autorka: mgr Elżbieta Boratyn

Choroby nowotworowe są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie. W związku z tym były one, i pomimo intensywnych badań mających na celu zrozumienie przyczyny ich powstawania oraz rozwijanie nowych form terapii, nadal są istotnym problemem cywilizacyjnym. Dlatego, badania mające na celu zrozumienie mechanizmu powodującego zaburzenia charakterystyczne dla danego typu nowotworu i/lub identyfikacja procesów prowadzących do powstania tej ciężkiej choroby są szczególnie ważne dla poprawy stanu zdrowia społeczeństwa. W tym kontekście szczególnie istotne jest zrozumienie zaburzeń leżących u podstaw chorób nowotworowych występujących u dzieci, a takim właśnie typem nowotworu jest neuroblastoma czyli nerwiak zarodkowy współczulny. Neuroblastoma jest najczęściej występującym złośliwym pozaczaszkowym guzem litym diagnozowanym u dzieci. W związku z niejednoznacznymi objawami, choroba ta diagnozowana jest względnie późno, co wiąże się najczęściej z jej znacznym zaawansowaniem.

U podstaw tej choroby leżą m.in. różnorodne zaburzenia genetyczne np. nieprawidłowości w budowie chromosomów, amplifikacja onkogenu *MYCN*. Nowotwór ten cechują różnorodne zaburzenia molekularne np. zmiany w ekspresji VEGF, NGF, integryn itd., które są obecnie wykorzystywane jako markery prognostyczne. Istnieją różne formy terapii neuroblastoma w zależności od stadium zaawansowania choroby i lokalizacji guza, jednakże żadna z nich nie jest doskonała i wiążą się one ze znacznym obciążeniem dla pacjentów.

W związku z tym lepsze poznanie mechanizmu zaburzeń obserwowanych w neuroblastoma a także zrozumienie potencjalnej zależności pomiędzy tym typem nowotworu i przewlekłym stanem zapalnym jest zagadnieniem bardzo istotnym i na czasie.

Celem przedstawionej pracy doktorskiej było rozszerzenie wiedzy na temat roli negatywnie regulującego stan zapalny białka MCPIP1 (ang. monocyte chemoattractant protein-1 induced protein 1) w ludzkich komórkach neuroblastoma. Osiągnięcie tego celu możliwe było dzięki realizacji dwóch szczegółowych zadań badawczych- *i/* oceny, za pomocą technik wysokoprzepustowych, zmian transkryptomicznych w komórkach neuroblastoma nadeksprymujących białko MCPIP1 oraz *ii/* oceny wpływu nadekspresji MCPIP1 na ścieżki sygnałowe kontrolujące aktywność onkogenu MYCN.

Przedstawiona praca składa się z dwóch oryginalnych publikacji doświadczalnych, streszczeń w języku polskim i angielskim, krótkiego wprowadzenia, omówienia publikacji a także części przedstawiającej perspektywy badań i działu Bibliografia liczącego 114 pozycji. Praca napisana jest w sposób interesujący i zawiera wystarczające informacje, które umożliwiają ocenę dokonań doktorantki oraz wagę prowadzonych przez nią badań. Zarówno układ pracy jak i ujęte w niej publikacje oraz informacje i oświadczenia spełniają wszelkie wymogi formalne i są zgodne z art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i

tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 poz. 595 z późniejszymi zmianami) oraz Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dn. 30 października 2015 r., w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. 2015, poz. 1842).

Ujęte publikacje stanowiące jednorodny wątek tematyczny opublikowane zostały w czasopismach anglojęzycznych z listy filadelfijskiej. Łączny IF prezentowanych prac wynosi 6,170. Zarówno pierwsza praca pt. *Monocyte Chemoattractant Protein-Induced Protein 1 Overexpression Modulates Transcriptome, Including MicroRNA, in Human Neuroblastoma Cells* jak i druga pt. *MCPIP1 Exogenous Overexpression Inhibits Pathways Regulating MYCN Oncoprotein Stability in Neuroblastoma* zostały opublikowane w Journal of Cellular Biochemistry odpowiednio w latach 2016 i 2017. Doktorantka jest pierwszą autorką powyższych prac, co świadczy o jej wiodącym wkładzie w ich powstanie.

W obu tych pracach przedstawione są wyniki badań, które są kontynuacją a także rozszerzeniem studiów nad neuroblastoma prowadzonych w Zespole P. Prof. Hanny Rokity. W pierwszej pracy określony został wpływ wymuszonej ekspresji białka MCPIP1 w komórkach neuroblastoma na transkryptom tych linii. Wysokoprzepustowa analiza transkryptomiczna za pomocą mikromacierzy wykazała znaczący wpływ białka MCPIP1 na ilość transkryptu grupy genów, które związane były z różnymi procesami wliczając w to metabolizm kwasów nukleinowych, replikację DNA, transport cząsteczek odżywczych itp. Wykazano również znaczący wpływ białka MCPIP1 na integralność mikroRNA i wyciągnięto ogólny wniosek, że białko MCPIP1 pełni istotną rolę w neuroblastoma, a jego wymuszona ekspresja może blokować progresję tego nowotworu.

Znaczący wpływ białka MCPIP1 na transkryptom linii neuroblastoma tłumaczony jest przez doktorantkę aktywnością rybonukleazową tego białka, jakkolwiek nie można wykluczyć jeszcze istnienia innych, zależnych od białka MCPIP1, mechanizmów regulacji ekspresji tych genów. Istnieją doniesienia, że białko MCPIP1 niesie sekwencję aminokwasową o funkcji NLS (ang. nuclear localisation signal) i może mieć potencjalną funkcje jądrową, co nie musi kolidować z funkcją białka MCPIP1 jako rybonukleaza i składnik kompleksu deubikwitynazowego. Rola białka MCPIP1 w kontroli poziomu mRNA genów, których ekspresja zmienia się w wyniku wymuszonej ekspresji tego białka w linii neuroblastoma nie musi być bezpośrednia. Regulacja ekspresji tych genów może zachodzić w wyniku oddziaływania MCPIP1 z jakimś innym ważnym białkiem regulującym ekspresję tych genów. W związku z powyższym proszę doktorantkę o przedyskutowanie tych kwestii.

W drugiej pracy określono wpływ białka MCPIP1 na *MYCN*, kluczowy onkogen w przypadku neuroblastoma. Wykazano, że nadekspresja białka MCPIP1 koreluje z obniżeniem zarówno ilości transkryptu MYCN jak również tego białka. Dodatkowo, zwiększenie ilości białka MCPIP1 w liniach neuroblastoma powoduje zaburzenie produkcji i fosforylacji białek partnerskich dla MYCN a także zahamowania ścieżki AKT/mTOR. Badania opisane w tej pracy pozwoliły na zaproponowanie modelu przedstawiającego mechanizm destabilizacji MYCN w komórkach neuroblastoma nadeksprymujących MCPIP1. Wyniki badań opisanych w tej pracy stanowią solidną podstawę do dalszych wielokierunkowych badań nad mechanizmami zależnych od MCPIP1 zaburzeń funkcjonowania szlaków sygnałowych w neuroblastoma.

Rdzeniem prezentowanej rozprawy doktorskiej są prace opublikowane w międzynarodowym czasopiśmie naukowym Journal of Cellular Biochemistry, gdzie zostały poddane szczegółowej ocenie zarówno przez recenzentów jak i Zespół Edytorski. Przyjęcie

tych prac do druku świadczy o tym, że autorzy prawidłowo i wyczerpująco odpowiedzieli na wszystkie uwagi recenzentów. Również w mojej ocenie prace te wykonane są bardzo starannie i są bez zarzutu.

Praca napisana jest poprawnym językiem, świadczącym o dojrzałości zawodowej doktorantki, jakkolwiek nie ustrzegła się ona nielicznych literówek i sformułowań potocznie używanych w laboratorium. Bardzo prosiłbym o wyjaśnienie co doktorantka rozumie przez „patologiczne zmiany epigenetyczne" s. 14 pracy doktorskiej.

Podsumowując uważam, że mgr Elżbieta Boratyn osiągnęła stawiane sobie cele. Wyniki obu prac doświadczalnych umożliwiły wyciągnięcie wniosku, że białko MCPIP1 odgrywa istotną rolę w neuroblastoma a przedstawiona praca doktorska w bardzo dobry sposób naświetla dalsze drogi prowadzenia badań w tej dziedzinie nauki. Dlatego wnioskuję do Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ o dopuszczenie mgr Elżbiety Boratyn do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie biorąc pod uwagę wagę merytoryczną prezentowanych badań oraz całokształt dorobku naukowego mgr. Elżbiety Boratyn, której łączny IF wynosi ok. 24 wnioskuję do Szanownej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.