



Dr hab. Bożena Jasińska, prof. nadzw. UMCS
Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej
Pl. Marii Curie Skłodowskiej 1
20-031-Lublin

Lublin, 05.10.2021

RECENZJA

pracy doktorskiej mgr Soni Wróbel

„Canonical correlation analysis of multi-omics data obtained from microvesicles of human skin melanoma cell lines and its possible application in biomarker discovery”

Praca została wykonana w Zakładzie Fizyki Medycznej Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Stępień i dr hab. Moniki Piwowar.

W prezentowanej pracy Pani mgr Sonia Wróbel przedstawia wyniki przeprowadzonej analizy korelacji kanonicznych (CCA) dla trzech baz danych: transkryptomu RNA całych komórek czerniaka skóry, transkryptomu miRNA i preteomiki z mikropęcherzyków zewnątrzkomórkowych czerniaka.

Część danych pochodziła z badań własnych doktorantki, przeprowadzonych na mikropęcherzykach pozyskanych z 4 linii komórkowych, pozostałe z publicznie dostępnych baz danych. Mikropęcherzyki zostały wyizolowane z linii WM115, WM226-4, WM793 i WM1205Lu, oczyszczone z zastosowaniem odpowiednich procedur, sekwencjonowane a następnie określono w nich genom oraz proteom metodą spektrometrii mas. Sekwencje RNA dla całych komórek tych samych linii komórkowych zostały pozyskane z baz danych. Uzyskane trzy bazy danych (a nie 2 jak stosuje się zwyczajowo) zostały poddane analizie korelacji kanonicznej. Celem przeprowadzonej analizy było uzyskanie informacji o czynnikach nowotworzenia w czerniaku skóry i stwierdzenie czy mikropęcherzyki zewnątrzkomórkowe i które ich struktury, mogą być uznane za tzw. biomarkery procesu nowotworowego.

Tematyka badań pracy wpisuje się w niezwykle istotny społecznie problem poszukiwania nowych procedur/metod wczesnej diagnostyki nowotworów.



Mikropęcherzyki zyskują wielkie zainteresowanie jako transportery informacji epigenetycznych z komórki do komórki. Uwzględniając, że są pozyskiwane z biofluidów ciała określonego pacjenta a ich koncentracja daje informację o stanie pacjenta w danym momencie, wpisuje się w nurt rozwijanej ostatnio intensywnie tzw. medycyny spersonalizowanej. Ponadto w przypadku stwierdzenia istnienia istotnych biomarkerów, może stać się podstawą nieinwazyjnego diagnozowania ciała.

STRUKTURA PRACY: Rozprawa doktorska mgr Soni Wróbel liczy 108 stron, z czego 65 zajmuje tekst pracy, pozostałe to spis literatury i appendixy zawierające tabele ze spisem baz danych i wynikami analiz korelacji kanonicznej dla różnych parametrów wejściowych. Dodatkowo na 18 stronach wstępnych zamieszczono streszczenia, spis terminów i skrótów oraz spis treści. Ma klasyczną strukturę dla prac eksperymentalnych: część teoretyczna (czyli przegląd aktualnego stanu wiedzy na temat badanego zagadnienia) i część doświadczalna (omówienie wyników badań własnych). Praca liczy 11 numerowanych rozdziałów, które zawierają:

- 1 – wstęp, w którym określono tezę pracy,
- 2 i 3 - podstawy teoretyczne, czyli opis ogólny analizy korelacji kanonicznej i klasyfikację mikropęcherzyków,
- 4-6 - wersję analizy korelacji kanonicznej, tzw sCCA zastosowaną w pracy oraz matryce danych i procedurę ich zawężenia,
- 7-9 rezultaty, począwszy od optymalizacji danych wejściowych do prezentacji rezultatów dla każdej z baz, oraz wskazanie potencjalnych biomarkerów,
- 10 - dyskusje otrzymanych wyników i
- 11 - krótkie podsumowanie.

oraz

- spis literatury – autorka cytuje prace z ostatnich kilku lat, a zatem praca oparta jest na aktualnych trendach naukowych.

NAJWAŻNIEJSZE REZULTATY

Istotne osiągnięcia tej pracy można zestawić w dwu grupach: jedne dotyczą metodyki badań a drugie uzyskanych wyników analiz.

W zakresie metodyki :



- zastosowanie innowacyjnej dwustopniowej metody izolowania (filtracja hydrostatyczna i odwirowanie) pozwoliło uzyskać wysokiej jakości mikropęcherzyki, które następnie sekwencjonowano do analizy genetycznej; przez autorkę nazwane miRNA,

- przeprowadzenie analizy statystycznej jedną z najnowszych „mutacji” korelacji kanonicznej, tzw. sparse CCA czyli na macierzach danych z których odrzucono nieistotne parametry z punktu widzenia poszukiwania czynników odpowiedzialnych za nowotworzenie komórek. Metoda ta pozwala efektywnie analizować bardzo duże zbiory danych,

- analiza korelacyjna 3 a nie 2 baz danych. Na dodatkowe podkreślenie zasługuje pomysł wyboru 2 baz RNA: z całej komórki i mikropęcherzyków a zatem możliwość określenia jakie informacje są przenoszone w mikropęcherzykach z komórki macierzystej.

W zakresie rezultatów analizy:

- wytypowanie wśród miRNA, RNA i białek 24 sygnatur molekularnych, które są kandydatami na biomarkery; lista została zamieszczona w appendixie nr 9,

- utworzenie bazy danych „open access” miRNA z badań własnych (Repozytorium Uniwersytetu Jagiellońskiego)

- propozycja modeli/hipotez funkcjonalnych, które mogą być podstawą przyszłych eksperymentów. Propozycja dalszych badań świadczy o głębokim zrozumieniu zagadnienia przez doktorantkę i jej predyspozycjach do prowadzenia badań naukowych.

Bezsprzecznym osiągnięciem przedstawionym w recenzowanej pracy jest udowodnienie, że metody statystyczne (tu: korelacji kanonicznej) pozwalają z ogromnej ilości danych uzyskiwanych w tzw. badaniach omicznych uzyskać informacje dotyczące np. wytypowania istotnych czynników prowadzących do zmian nowotworowych. W braku takich analiz trzeba by było każdą z sygnatur badać niezależnie, co w zasadzie uniemożliwiłoby uzyskanie istotnych wyników w sensownym czasie.

DOROBEK NAUKOWY

Doktorantka zamieściła w pracy spis publikacji naukowych już opublikowanych oraz prezentacji konferencyjnych, można więc dokonać oceny jej dorobku. Mgr Sonia Wróbel jest współautorką 5 publikacji naukowych z czego 4 zostały opublikowane w



wysoko punktowanych czasopismach umieszczonych na liście Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. 2 prace są bezpośrednio związane z wynikami zamieszczonymi w rozprawie doktorskiej. Wnosząc z listy autorów, pozostałe pochodzą z okresu wcześniejszej działalności naukowej doktorantki. Jest również współautorką 6 doniesień konferencyjnych, 3 są związane z prezentowaną pracą – i te mgr Sonia Wróbel przedstawiała osobiście. Na poziomie pracy doktorskiej jest to dorobek znaczący.

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Soni Wróbel spełnia wymagania stawiane pracom na stopień naukowy doktora nauk w dyscyplinie nauk fizycznych zgodnie z obowiązującymi przepisami ustawowymi. Zwracam się zatem do Rady Dyscypliny Nauki Fizyczne Instytutu Fizyki im. Mariana Smoluchowskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie mgr Soni Wróbel do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uwzględniając dorobek autorki oraz zarówno bardzo wysoki poziom zastosowanej metodyki, nowatorstwo tematyki badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej, jak i unikalność uzyskanych wyników zgłaszam wniosek o jej wyróżnienie.

