



**WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII**

prof. dr hab. **Paweł Mackiewicz**  
**ZAKŁAD BIOINFORMATYKI I GENOMIKI**  
 ul. F. Joliot-Curie 14a  
 50-383 Wrocław  
 tel. +48 71 375 63 03  
 pamac@smorfland.uni.wroc.pl

Wrocław, 11.08.2021

**Recenzja osiągnięć Pani doktor Cecili Lanny Winaty w  
 związku z Jej ubieganiem się o nadanie stopnia doktora  
 habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w  
 dyscyplinie nauk biologicznych**

**Ocena formalna**

Przedmiotem niniejszej recenzji jest ocena osiągnięć naukowo-badawczych i dydaktycznych Pani doktor Cecili Lanny Winaty, która ubiega się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk biologicznych w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk.

Przedstawione do oceny materiały i dokumenty zostały przygotowane zgodnie z wymogami formalnymi określonymi w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r., poz. 85, z późn. zm.). Autoreferat i wykaz osiągnięć naukowych oraz dydaktycznych zostały przedstawione w sposób przejrzysty i jasny umożliwiając dokonanie rzetelnej recenzji.

Zgodnie z art. 219 ust. 1 Ustawy Pani doktor Cecilia Lanny Winata może zostać dopuszczona do postępowania habilitacyjnego, ponieważ posiada stopień Doctor of Philosophy nadany przez National University of Singapore (Singapur) 30 listopada 2009, który został uznany za równoważny z polskim stopniem naukowym doktora w dyscyplinie nauki biologiczne na podstawie rozstrzygnięcia Dyrektora Międzynarodowego Instytutu Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie nr SCU.523.1.2019 z dnia 2 grudnia 2019 r. Tytuł tej rozprawy doktorskiej brzmiał: Development of the zebrafish swimbladder (Rozwój pęcherza pławnego u danio przegowanego).

## Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe Pani dr Cecilia Winata przedstawiła cykl pięciu publikacji oryginalnych, dwóch artykułów przeglądowych oraz dwóch rozdziałów w książkach z lat 2011-2019, pod wspólnym tytułem "Genomika rozwoju danio pręgowanego". Prace są spójne tematycznie i dotyczą regulacji ekspresji genów w rozwoju zarodkowym z zastosowaniem metod genomicznych u modelowego organizmu danio pręgowanego (*Danio rerio*). Habilitantka skupiła się na poziomie transkrypcyjnym i translacyjnym regulacji genów odpowiedzialnych za rozwój embrionalny. Dwie prace zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie *Genome Research* a pozostałe w renomowanych czasopismach *Development*, *PLoS Genetics*, *FEBS Letters*, *Developmental Dynamics* i *Genes*. Prace te były cytowane już co najmniej 216 razy.

Zagadnienie podjęte przez habilitantkę jest bardzo aktualne i interesujące, ponieważ dotyczy rozwoju embrionalnego kręgowców na przykładzie modelowego gatunku danio pręgowanego. Poznanie tych procesy nie tylko pozwoli poznać mechanizmy rozwoju organizmów, ale również zrozumieć zaburzenia i choroby z nim związane, co może być pomocne w leczeniu.

W pracy oryginalnej [1] opisano wyniki badań nad ekspresją genów we wczesnej fazie embriogenezy danio. Wyniki uzyskano dzięki zastosowaniu metod nowych na ówczesne czasy, tj. sekwencjonowanie nowej generacji (NGS, ang. Next Generation Sequencing) w połączeniu z klasycznymi technikami biologii rozwojowej. Autorzy pracy słusznie zwrócili uwagę, że liczba identyfikowanych transkryptów może być w dużym stopniu niedoszacowana ze względu na stosowaną technikę selekcji poli(A), która może pomijać te z krótkimi ogonkami poli(A) lub bez nich. Analizy pokazały obecność dwóch grup transkryptów matczynych przed dziesiątym podziałem komórkowym (~3,5 godziny po zapłodnieniu), czyli przed stadium średniej blastuli (MBT, ang. mid-blastula transition). W mniejszości były transkrypty poliadenylowane przed zapłodnieniem, a w większości te, które początkowo miały krótkie ogonki poli(A) bądź były ich pozbawione. Transkrypty tej drugiej grupy były następnie stopniowo poliadenylowane w procesie tzw. poliadenylacji cytoplazmatycznej (CPA, ang. cytoplasmic polyadenylation) i aktywowane translacyjnie po zapłodnieniu. Badania te dotyczyły zjawisk zachodzących w procesie przejścia z kontroli matczynej do zygotycznej (MZT, ang. maternal to zygotic transition), w której przewagę uzyskują transkrypty nowo produkowane przez genom powstałej zygoty kosztem transkryptów odziedziczonych z cytoplazmy oocytu. Eksperyment z zahamowaniem poliadenylacji

pokazał, że cytoplazmatyczna poliadenylacja matczynych transkryptów przed MBT jest decydująca dla dalszych etapów embriogenezy. Przeprowadzone badania dostarczyły również cennych danych genomowych, ponieważ określono ekspresję 5278 genów. Dane te posłużą do odkrywania nowych genów i szlaków zaangażowanych w procesy rozwojowe kręgowców.

Prace oryginalna [2] i przeglądowa [6] są kontynuacją wcześniejszych badań i przedstawiają w jaki sposób regulacja translacji matczynych transkryptów poprzez poliadenylację cytoplazmatyczną przyczynia się do przejścia z kontroli matczynej do zygotycznej (MZT). W tym celu przeprowadzono analizy profilowania transkryptów wiązanych przez polisomy. Wykazano, że matczyne mRNA, które przechodzą poliadenylację cytoplazmatyczną, podlegają pozytywnej regulacji translacji, co objawia się wzrostem ich asocjacji do polisomów bez wzrostu poziomu transkryptów. Stwierdzono, że poliadenylacja cytoplazmatyczna może regulować MZT poprzez ułatwianie aktywacji genomu zygotycznego i degradacji matczynego mRNA. Zablockowanie poliadenylacji matczynych transkryptów doprowadziło do opóźnień i zaburzeń dalszych etapów embriogenezy, co świadczy o tym, że poliadenylacja cytoplazmatyczna jest niezbędna do poprawnego rozwoju do etapu średniej blastuli włącznie.

Odrębne zagadnienie, ale związane z rozwojem embrionalnym danio jest poruszone w publikacji [3]. Dotyczy ono znaczenia czynnika transkrypcyjnego *Zic3* znanego z roli w tworzeniu wzorca symetrii bocznej ciała kręgowców. Określono w jakich częściach zarodka i w jakim czasie następuje ekspresja genu *zic3*. Stosując metodę ChiP-seq określono wiele regionów w genomie, z którymi się to białko wiąże, co świadczy o jego dużej roli w regulacji ekspresji innych genów. Dzięki tym badaniom zidentyfikowano geny regulowane przez *Zic3*. Stwierdzono, że z czasem zmienia się wiązanie *Zic3* do regionów w genomie. Początkowo wpływa ono na geny związane z gastrulacją, a później z neurogenezą. Wyniki ujawniły udział *Zic3* w kilku szlakach sygnałowych. Wykazano, że działa ono jako inhibitor komórek endodermalnych hamując sygnalizację Nodal, która ma wpływ na różnicowanie się mezendodermy. Białko *Zic3* może także regulować niekanoniczny szlak sygnałowy Wnt związany z biogenezą rzęski. Stwierdzono również, że ten czynnik transkrypcyjny reguluje geny związane z proliferacją progenitorowych komórek nerwowych i może pełnić rolę w różnicowaniu się neuronów jako inhibitor.

Zagadnienie związane z białkiem *Zic3* zostało rozwinięte w pracy [4], w której ujawniono konserwatywne elementy niekodujące (CNE, ang. conserved noncoding elements) w pobliżu genomowych loci *zic3-zic6* u danio pręgowanego. Elementy te mogą pełnić funkcje

wzmacniaczy transkrypcji (enhancerów). Wykazano, że ten enhancer może prowadzić do ekspresji genów reporterowych GFP w uzdeczce, tj. strukturze w mózgu regulującej zróżnicowany zestaw zachowań, tj. funkcje endokrynologiczne, powonienia oraz reakcję na strach. Uzyskane wyniki sugerują, że enhancer jest prawdopodobnie odpowiedzialny za ekspresję *zic3* w rejonie uzdeczki. Enhancer ten może być także odpowiedzialny za ekspresję genów neuronalnych nie tylko w cewce nerwowej, ale także w płetwie piersiowej, sercu i narządach zmysłów. Wygenerowana na potrzeby tej pracy linia transgeniczna danio może być pomocna w badaniach rozwoju i funkcji układu limbicznego mózgu innych kręgowców i wad wrodzonych.

Praca oryginalna [5] i praca przeglądowa [7] poruszają inny interesujący temat embriologiczny dotyczący rozwoju serca. Opisano w nich zmianę ekspresji genów w kardiomiocytach w trzech kluczowych etapach morfogenezy serca. Badania transkryptomu uzupełniono analizami dostępności chromatyny dla transpozazy z sekwencjonowaniem o wysokiej przepustowości (ATAC-seq) w celu określenia profilu dostępności chromatyny. Wykazano istotne korelacje między regionami wolnymi od nukleosomów i poziomami ekspresji genów, których promotor leżał w tych regionach. Wykorzystując ważoną analizę sieci korelacji genów (WGCNA, ang. weighted gene correlation network analysis) zbudowano sieci regulatorowe genów oraz zidentyfikowano moduły genowe związane z rozwojem i funkcją układu krążenia. Podobne analizy wykonano dla mutantów z uszkodzonymi czynnikami transkrypcyjnymi związanymi z rozwojem serca, dzięki czemu określono zmiany w globalnej regulacji ekspresji genów i dostępności chromatyny. Wśród regionów o zróżnicowanej dostępności chromatyny odkryto wysoce konserwowane elementy niekodujące, które mogą być związane z rozwojem serca. Uzyskane wyniki dostarczają istotnych informacji, które wyjaśniają mechanizmy rozwoju serca i mogą być pomocne w zrozumieniu powstawania chorób tego narządu.

Dwa rozdziały w książkach [8] i [9] podane w dorobku nie zostały jawnie opisane w autoreferacie. Jednak dotyczą one pokrewnych zagadnień embriologicznych i genomicznych poruszonych w opisanych publikacjach.

Wkład i udział habilitantki w przedstawionych pracach jest bardzo znaczący. W pięciu pracach jest ona pierwszym autorem lub pierwszy autorem współdzielonym. W trzech pracach jest ostatnim autorem, a w jednej drugim. Wkład do tych prac polegał na współustaleniu koncepcji i projektowaniu eksperymentów oraz przeprowadzeniu różnorodnych analiz i eksperymentów. Habilitantka uczestniczyła także w interpretowaniu

wyników i tworzeniu samego manuskryptu. Podane udziały wynoszą od 20% do 60%. Jednakże udziały te różnią się o 10% i 5% dla publikacji nr 1 i 3 w dwóch załączonych plikach (autoreferacie i wykazie prac).

Przedstawiony do oceny dorobek pokazuje, że dr Cecilia Winata charakteryzuje się dużą samodzielnością i dojrzałością jako pracownik naukowy oraz pomysłowością w rozwiązywaniu postawionych problemów. Potrafi również poprawnie interpretować uzyskiwane wyniki. Dysponuje nowoczesnym warsztatem badawczym w dziedzinie embriologii, genomiki, transkryptomiki i bioinformatyki oraz potrafi pracować w zespole. Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego pani doktor Cecylia Winaty można stwierdzić, że przedstawione osiągnięcie naukowe spełnia podstawowe kryterium ustawowe, tzn. stanowi indywidualny, znaczny wkład autorki w rozwój dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk biologicznych. Uważam, że przedstawione prace są istotnym osiągnięciem w zrozumieniu rozwoju embrionalnego kręgowców uwzględniając poziom molekularny. Nie są tylko przedstawieniem i opisaniem stwierdzonych faktów, ale starają się wyjaśnić mechanizmy tych procesów i mogą mieć znaczenie w zrozumieniu i leczeniu zaburzeń rozwojowych.

#### **Lista publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe habilitantki cytowanych w ocenie**

##### Prace oryginalne

[1] Aanes H.\*, Winata C.L.\*, Lin C.H., Chen J.P., Srinivasan K.G., ..., Aleström P., Mathavan S. (2011) Zebrafish mRNA sequencing deciphers novelties in transcriptome dynamics during maternal to zygotic transition. *Genome Research* 21(8): 1328-1338.

[2] Winata C.L.\*, Łapiński M., Pryszcz L., Vaz C., Ismail M.H., Hajan H.S., Lee S.G.P., Korzh V., Sampath P., Tanavde V., Mathavan S.\* (2018) Cytoplasmic polyadenylation mediated translational control of maternal mRNAs directs zebrafish maternal to zygotic transition. *Development* 145(1):dev159566.

[3] Winata C.L., Kondrychyn I., Kumar V., Srinivasan K.G., Orlov Y., ..., Mathavan S. (2013) Genome-wide analysis reveals Zic3 interaction with distal regulatory elements to regulate zebrafish developmental genes. *PLoS Genetics* 9(10):e1003852.

[4] Minhas R., Paterek A., Łapiński M., Bazała M., Korzh V., Winata C.L. (2019) A novel conserved enhancer at zebrafish zic3 and zic6 loci drives neural expression. *Developmental Dynamics* 248(9):837-849

[5] Pawlak M., Kedzierska K.Z., Migdal M., Abu Nahia K., Ramilowski J.A., Bugajski L., Hashimoto K., Marconi A., Piwocka K., Carninci P., Winata C.L. (2019) Dynamics of cardiomyocyte transcriptome and chromatin landscape demarcates key events of heart development. *Genome Research* 29(3): 506-519.

#### Prace przeglądowe

[6] Winata C.L., Korzh V. (2018) The translational regulation of maternal mRNAs in time and space. *FEBS Letters* 592(17):3007-3023

[7] Pawlak M., Niescierowicz K., Winata C.L. (2018) Decoding the heart through next generation sequencing approaches. *Genes* 9(6):289

#### Rozdziały w książkach

[8] Winata C.L., Korzh V. (2018) Zebrafish Zic genes mediate developmental signaling. ZIC family: evolution, development and disease. Seria wydawnicza: *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1046:157-177

[9] Kraus P., Winata C.L., Lufkin T. (2015) BAC transgenic zebrafish for transcriptional promoter and enhancer studies. *Methods in Molecular Biology* 2015; 1227:245-258

## Ocena pozostałej aktywności naukowej

W pozostałych osiągnięciach naukowo-badawczych dr Cecilia Winata podała jedną pracę opublikowaną przed uzyskaniem stopnia doktora, dwie publikacje związane z pracą doktorską oraz 13 prac po uzyskaniu stopnia doktora. Wiele z tych prace zostało opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych. Udział habilitantki wynosił od 10% do 50% oraz polegał na pisaniu manuskryptu i wykonywaniu analiz. Całkowity dorobek publikacyjny charakteryzuje się dużą liczbą cytowań wynoszącą 902 (wg Web of Science bez autocytowań), wysokim sumarycznym współczynnikiem wpływu IF równym 113,806, oraz współczynnikiem Hirscha wynoszącym 14.

Kariera naukowa habilitantki rozpoczęła się przed uzyskaniem stopnia doktora, kiedy to zajmowała się badaniami nad rozwojem pęcherza pławnego danio pręgowanego. W ramach tych analiz wyróżniono etapy rozwoju pęcherza i ujawniono, że składa się on z trzech odrębnych warstw tkanek charakteryzujących się różną ekspresją wybranych markerów molekularnych. Stwierdzono także rolę szlaku Hedgehog w rozwoju tego pęcherza. Ważne

jest to, że wykazano pierwsze molekularne dowody na homologię pomiędzy pęcherzem pławnym a płucami kręgowców lądowych. Badania pęcherza pławnego mogą być pomocne w zrozumieniu wczesnego rozwoju płuc oraz wpływu toksyn na funkcjonowanie tego narządu.

Po doktoracie dr Cecilia Winata była zaangażowana w różne tematy badawcze, które dotyczyły: rozwoju embrionalnego różnych organów z uwzględnieniem danych molekularnych, normalizacji danych transkryptomicznych i hepatoksyczności w powiązaniu z ekspresją genów. Nie zostały one jednak jawnie opisane w autoreferacie. Przedstawiono natomiast aktualne prace badawcze dotyczące analizy genomicznej rozwoju rozrusznika, tj. układu przewodzącego serca. Badania transkryptomiczne ujawniły geny związane z aktywnością tego rozrusznika. Ze względu na zróżnicowanie komórek rozrusznika i potencjalnie różną ekspresję ich genów stosowane jest sekwencjonowanie kwasów nukleinowych z pojedynczych komórek. Wykorzystanie serca danio przegowanego jako modelu może ułatwić zrozumienie rozwoju i funkcjonowania serca oraz farmaceutyczne badania przesiewowe na dużą skalę w celu odkrycia nowych metod leczenia chorób serca.

Doktor Winata była redaktorem naczelnym dwóch specjalnych wydań *Developmental Biology* i *Briefings in functional Genomics*. Habilitantka aktywnie uczestniczyła w międzynarodowych konferencjach naukowych. W sumie ma na swoim koncie posiada 30 zgłoszenia konferencyjne, w tym 15 wystąpień ustnych, a 15 prezentacji w formie plakatów. Zasiadała trzykrotnie w komitetach organizacyjnych konferencji międzynarodowych. Dr Cecilia Winata zaangażowana była lub jest w pięć projektów badawczych. Jak podała była kierownikiem w jednym z nich. W trzech nie podała swojej roli. Pełni istotne funkcje w pięciu grupach roboczych, organizacjach i towarzystwach naukowych oraz uczestniczyła w programie Fishmed. Recenzowała wnioski badawcze w tym finansowane przez ERC oraz 25 artykułów naukowych z 13 czasopism w tym renomowanych jak np. *Nucleic Acids Research*, *Genome Biology* i *eLIFE*, co świadczy jej uznaniu w środowisku naukowym.

Habilitantka odbyła w sumie cztery staże zagraniczne, co miało istotny wpływ na uzyskanie przez nią dużych osiągnięć naukowych i poznanie różnorodnego warsztatu badawczego. Po wielu doświadczeniach za granicą i współpracy z renomowanymi grupami naukowców Pani dr Cecilia Winata uzyskała dużą wiedzę i umiejętności umożliwiające założenie własnego zespołu badawczego. Obecnie jest kierownikiem wspólnej grupy Instytutu Maxa Plancka w Niemczech i Międzynarodowego Instytutu Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie.

## **Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej**

Poza działalnością naukową dr Cecilia Winata może wykazać się dorobkiem dydaktycznym. Prowadziła wykłady podczas warsztatów naukowych dla studentów. Była promotorem trzech prac magisterskich, a jako promotor pomocniczy nadzorowała lub nadzoruje sześciu doktorantów. Opiekowała się czterema stażystami. Na studiach licencjackich prowadziła ćwiczenia na trzech kursach oraz oceniała sprawozdania laboratoryjne, testy i zadania. W ramach działalności popularyzatorskiej udzieliła wywiadu dla "Jak to Działa?" na temat znaczenia badań nad rozwojem serca u danio w poznaniu rozwoju i chorób tego narządu u człowieka.

### **Wniosek końcowy**

W oparciu o przedstawione dokumenty i załączniki mogę stwierdzić, że recenzowane osiągnięcie naukowe oraz inne dokonania naukowe Pani doktor Cecylie Winacie uzyskane po otrzymaniu przez nią stopnia doktora wykazują znaczny jej wkład w rozwój danej dyscypliny naukowej, a habilitantka wykazuje się istotną aktywnością naukową oraz współpracę międzynarodową. Jej badania dotyczące rozwoju embrionalnego danio przegowanego pozwalają wyjaśnić jego interesujące aspekty na poziomie molekularnym i zrozumieć zaburzenia rozwojowe, co może być pomocne w leczeniu wielu chorób. Mogę stwierdzić, że Pani dr Cecilia Winata jest gotowa do podjęcia samodzielnej pracy naukowej i tworzenia własnego zespołu badawczego.

Ostatecznie stwierdzam, że habilitantka spełnia wymagania zapisane w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r., poz. 85 z późn. zm.). Dlatego popieram wniosek o nadanie Pani dr Cecylie Winacie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk biologicznych.



Paweł Mackiewicz