

Dr hab. n. med. Anna Stanisławska-Sachadyn, prof. PG
Telefon: +48 58 348 16 05
anna.stanislawska@pg.edu.pl

Gdańsk 27.09.2023r.

OCENA

osiągnięcia naukowego pt. „Struktura chromatyny w jądrach komórek ssaków: dynamika rozwojowa, wkład w kontrolę ekspresji genów oraz mechanizmy kontrolujące” oraz dorobku naukowego dr Aleksandry Pękowskiej w postępowaniu habilitacyjnym o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplinie: nauki biologiczne

Dr Aleksandra Pękowska ukończyła w 2005 r. studia biologiczne na Wydziale Biologii i Ochrony środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. W roku 2011 obroniła z wyróżnieniem w Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, Université de la Méditerranée, Marsylia (obecnie Université d'Aix-Marseille) przygotowaną pod kierunkiem dr. Pierre'a Ferriera, we współpracy z promotorem pomocniczym dr. Salvatore Spicuglią pracę doktorską pt. „Epigenetic landscape of normal and malignant lymphohematopoiesis: interplays between chromatin signature and tissue specific gene expression” (pol. *Krajobraz epigenetyczny prawidłowej i złośliwej limfohematopoezy: interakcje pomiędzy sygnaturą chromatyny a ekspresją genów tkankowo-specyficznych*).

W latach 2011-2019 Dr Pękowska odbyła dwa staże podoktorskie – w Europie, kolejno w laboratoriach dr. W. Hubera, dr. L. Steinmetza i dr. P. Bertone w Europejskim Laboratorium Biologii Molekularnej (EMBL) w Heidelbergu oraz w Europejskim Laboratorium Bioinformatyki w Cambridge; a następnie w Stanach Zjednoczonych, w laboratorium *Lymphocyte Nuclear Biology* kierowanym przez dr. R. Casellas w *National Institute of Arthritis Musculoskeletal and Skin Diseases* (NIAMS) oraz w National Institutes of Health (NIH), Bethesda.

Aktualnie dr Pękowska jest zatrudniona w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, gdzie kieruje Centrum Dioscuri Biologii Chromatyny i Epigenomiki (ang. *Dioscuri Centre for Chromatin Biology and Epigenomics*).

Ocena osiągnięcia naukowego

Tematem osiągnięcia naukowego przedstawionego we wniosku habilitacyjnym jest rola czynnika wiążącego sekwencje CAAT i kohezyn w biologii jądra komórkowego.

Łączny współczynnik wpływu (IF) publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi zgodnie z rokiem publikacji 111,438, natomiast łączna liczba punktów MNiSW wynosi 940 (wg wykazu z 9 lutego 2021). Na osiągnięcie naukowe składają się 4 publikacje oryginalne oraz 1 publikacja przeglądowa. Według bazy Web of Science prace te zostały zacytowane 855 razy (do dnia 22.03.2023r.). Każda z publikacji zawiera paragraf opisujący wkład wszystkich autorów w powstanie pracy.

W skład osiągnięcia naukowego dr Pękowskiej wchodzi następujące publikacje:

1. Pękowska A, Klaus B, Xiang W, Severino J, Daigle N, Klein FA, Oleś M, Casellas R, Ellenberg J, Steinmetz LMS, Bertone P, and Huber W (2018) Gain of CTCF-anchored chromatin loops marks the exit from naive pluripotency. *Cell Systems* 7:482-495
IF5: 13,520. Pkt. MNiSW: 200
2. Schwarzer W, Abdennur N, Goloborodko A, Pękowska A, Fudenberg G, Loe-Mie Y, Fonseca NA, Huber W, Haering C, Mirny L, Spitz F (2017) Two independent modes of chromosome organization are revealed by cohesion removal. *Nature* 551:51-56
IF5: 63,581. Pkt. MNiSW: 200
3. Vian L, Pękowska A, Rao SSR, Kieffer-Kwon K-R, Jung S, Baranello L, Huang SC, El Khattabi L, Dose M, Pruett N, Sanborn AL, Canela A, Maman Y, Oksanen A, Resch W, Li X, Lee B, Kovalchuk AL, Tang Z, Nelson S, Di Pierro M, Cheng RR, Machol I, St Hilaire BG, Durand NC, Shamim MS, Stamenova EK, Onuchic JN, Ruan Y, Nussenzweig A, Levens D, Aiden EL, Casellas R (2018) The energetics and physiological impact of cohesin extrusion. *Cell* 173:1165-1178.e20
IF5: 59,901. Pkt. MNiSW: 200
4. Petermann F, Pękowska A, Johnson CA, Jankovic D, Shih HY, Jiang K, Hudson WH, Brooks SR, Sun HW, Villarino AV, Yao C, Singleton K, Akondy RS, Kanno Y, Sher A, Casellas R, Ahmed R, O'Shea JJ (2019) The Magnitude of IFN- γ Responses Is Fine-Tuned by DNA Architecture and the Non-coding Transcript of Ifng-as1. *Mol Cell* 75:1229-1242.e5
IF5: 20,747. Pkt. MNiSW: 200
5. Dehingia B, Milewska M, Janowski M, Pękowska A (2022) CTCF shapes chromatin structure and gene expression in health and disease (Review). *EMBO Reports* 23:e55146
IF5: 10,710. Pkt. MNiSW: 140

W osiągnięciu naukowym szczególną uwagę zwraca publikacja nr 1 Habilitantki, opublikowana w czasopiśmie *Cell Systems* w 2018 r., której Habilitantka jest pierwszym autorem. Studia dr Pękowskiej koncentrowały się nad badaniami organizacji chromatyny w trójwymiarowej przestrzeni jądra komórkowego na wczesnych etapach rozwoju zarodkowego, oraz nad wpływem organizacji chromatyny na regulację ekspresji genów. Jest to temat aktualny, o ogromnym potencjale poznawczym. Badacze odpowiedzieli na

pytanie, czy pętle architekuralne i domeny asocjacji topologicznej różnią się w embrionalnych komórkach macierzystych w odniesieniu do zróżnicowanych typów komórek. Przez porównanie różnicowania komórek embrionalnych oraz komórek pnia nerwowego wykazali, że podczas wczesnych etapów rozwoju ma miejsce konsolidacja trójwymiarowej struktury domen topologicznych, w szczególności:

- trzykrotnie więcej pętli architekuralnych jest indukowanych niż zanikających podczas różnicowania komórek embrionalnych, co koreluje ze wzrostem siły wiązania czynnika wiążącego sekwencje CAAT (CTCF);
- granice domen asocjacji topologicznej są wzmacniane podczas rozwoju. Architekuralne pętle łączące granice domen asocjacji topologicznej są słabsze w komórkach embrionalnych;
- ogólna zmiana w strukturze chromatyny podczas utraty pluripotencji koreluje ze zwiększonym wiązaniem CTCF i kohezyn oraz wyraźniejszą izolacją kontaktów poprzez granice domen topologicznych;
- przeprogramowanie komórek pnia nerwowego do pluripotentnych przywraca unikalne cechy topologii chromatyny w komórkach embrionalnych;
- domeny topologiczne utworzone w wyniku różnicowania są wzbogacone o geny związane z różnicowaniem.

W tych badaniach zostały wykorzystane między innymi techniki: *in-situ* Hi-C (ang.: *high-throughput chromatin conformation capture*), która służy do rekonstrukcji przestrzennych map bliskości regionów DNA w jądrze komórkowym; technika TCC (ang.: *tethered chromatin conformation capture*); technika ChIP-Seq.

Wyniki opublikowane w pracy 1 stanowią istotny wkład w rozumienie zmian w strukturze chromatyny podczas rozwoju komórki. Ustalenie, jakie zmiany zachodzą w granicach domen asocjacji topologicznej w procesie wyjścia komórek z pluripotencji stanowi znaczące osiągnięcie naukowe. Praca była realizowana podczas stażu podoktorskiego Habilitantki w EMBL w grupach dr. Wolfganga Huberta, dr. Larsa Steinmetza i dr. Paula Bertone'a, i była możliwa dzięki otrzymaniu przez Habilitantkę stypendium EMBL *Interdisciplinary PostDoc* – EIPOD typu „*self designed project*”. Zaangażowanie Habilitantki jest ponadto wyraźne w nawiązanej w czasie realizacji projektu współpracy z matematykiem dr. B. Klaussem i dr. W. Huberem w zakresie analizy bioinformatycznej. Co więcej, wyniki tej pracy stanowiły podstawę uzyskania grantu OPUS17, kierowanego przez dr. Pękowską i realizowanego obecnie w Jej zespole w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego, którego celem jest zrozumienie mechanizmów kierujących wzrostem siły tworzenia pętli chromatyny podczas rozwoju przez sterowanie poziomem białka CTCF na różnych stadiach rozwoju komórek embrionalnych. Projekt angażuje analizy proteomiczne, technikę edycji genomu CRISPR-

Cas9, mikroskopię super-rozdzielczą, techniki biologii molekularnej (ChIP-seq, RNA-seq, ATAC-seq, Hi-C), oraz modele komórkowe.

Nie mniej znaczące są kolejne prace ujęte w Osiągnięciu. W pracy nr 2, której dr Pękowska jest drugim autorem, a która ukazała się w *Nature* w 2017 r. badacze udowodnili, że kompleks białkowy kohezyn buduje strukturę chromatyny i wskazali na słuszność modelu wytłaczania pętli, jako mechanizmu powstawania domen asocjacji topologicznej. Projekt ten został wykonany w ramach współpracy z laboratorium dr. François Spitz w EMBL.

Publikacja nr 3 z roku 2019 ukazała się w czasopiśmie *Cell*, a dr Pękowska jest jej pierwszym autorem. Autorzy wykazali, że pętle asocjacji topologicznej tworzą się w procesie wymagającym aktywności ATPazowej kohezyn, a odkrycie unikatowej struktury chromatyny związanej z aktywnością super-wzmacniaczy umożliwiło zaproponowanie nowego mechanizmu tłumaczącego wkład topologii chromatyny w regulację transkrypcyjną genów.

Dr Pękowska jest drugim autorem pracy numer 4 opublikowanej w *Molecular Cell* w 2019 r. Celem tej pracy było zbadanie *locus* genetycznego *Ifng* oraz jego produktu RNA. Rezultaty tego projektu przyczyniły się do wykazania udziału białka CTCF w regulacji odpowiedzi immunologicznej. Te badania były realizowane przez dr Pękowską podczas stażu podoktorskiego w NIAMS/NIH w Stanach Zjednoczonych, we współpracy z dr. F. Peremannem.

W roku 2022 zespół z Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego, którym kieruje dr Pękowska opublikował pracę przeglądową w *EMBO Reports* (publikacja 5), która systematyzuje aktualny stan wiedzy na temat kontroli ekspresji genów przez białko CTCF zarówno, jako izolatora, lub czynnika ułatwiającego skuteczną interakcję między elementami regulacyjnymi w przestrzeni nuklearnej w czasie rozwoju komórkowego oraz w stanach chorobowych organizmu.

Ocena pozostałej aktywności naukowej, działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Dr Pękowska rozpoczęła swoje badania nad regulacją funkcji genomu w trakcie rozwoju komórek już podczas studiów doktoranckich w Centrum Immunologii Marsylia-Luminy w laboratorium dr. Pierre'a Ferriera i grupie dr. Salvatore Spicuglia. Badania kartografii wybranych modyfikacji histonów i metylacji DNA w tymocytach doprowadziły do odkrycia związku pomiędzy poziomem trimetylacji lizyny 4 histonu 3 oraz aktywnością wzmacniaczy i były podstawą publikacji Pękowska i wsp. (*EMBO J.* 2011. 30:4198-210).

Podczas stażu podoktorskiego dr Pękowska uczestniczyła ponadto w badaniach nad klasyfikacją pacjentów z ostrą białaczką mieloblastyczną o karyotypie normalnym pod

kątem odpowiedzi na leczenie na podstawie profilu modyfikacji chromatyny (Tiberi i wsp. *Leukemia*. 2015. 29:1202-6). Brała także udział w projektach, których celem było lepsze zrozumienie genetycznych podstaw różnorodności międzyosobniczej (Grubert i wsp. *Cell*. 2015. 162:1051-65). Wraz ze współpracownikami uczestniczyła w oszacowaniu zmian w produkcji izoform mRNA podczas różnicowania komórek embrionalnych do neuralnych komórek macierzystych (Velten i wsp. *Mol Syst Biol*. 2015 11:812). Ponadto, Jej umiejętności w zakresie biologii obliczeniowej zaowocowały licznymi współpracami. Stąd, na pozostały dorobek naukowy Habilitantki po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, z wyłączeniem prac wchodzących w skład głównego osiągnięcia, składa się 11 publikacji, o łącznym współczynniku wpływu równym 223,898 zgodnie z rokiem publikacji; punkty MNiSW wynoszą 1880.

Od 2019 dr Pękowska kieruje grupą badawczą w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN im. Marcelego Nenckiego w Warszawie. Jej zespół pracuje nad zrozumieniem genetycznych i epigenetycznych mechanizmów rządzących tożsamością komórkową. Grupa naukowa rozwija liczne współprace z naukowcami w Polsce, innych krajach europejskich i Stanach Zjednoczonych. Dr Pękowska jest niezwykle aktywna w zdobywaniu funduszy na badania. Aktualnie jest kierownikiem 3 projektów finansowanych z Narodowego Centrum Nauki: OPUS22, Sonata Bis11, OPUS19; oraz EMBO Installation Grant. Jest laureatką konkursu na kierownika Centrum Doskonałości Naukowej Dioscuri (program współpracy Towarzystwa Maxa Plancka i Narodowego Centrum Nauki). Zrealizowała grant SONAR dotyczący detekcji wirusa SARS-CoV-2.

Dr Pękowska popularyzuje naukę wygłaszając liczne wykłady na zaproszenie na sympozjach naukowych, seminariach popularnonaukowych i zebraniach studenckich kół naukowych. Przedstawia wyniki swoich prac w Polsce, w innych krajach europejskich oraz w Stanach Zjednoczonych. Habilitantka przewodniczy radzie naukowej organizującej seminaria naukowe Instytutu Biologii Eksperymentalnej im. M. Nenckiego. Pragnę podkreślić, że Habilitantka, jako pracownik Instytutu Naukowego PAN nie ma obowiązku dydaktycznego, mimo to uczestniczy w kształceniu studentów na różnych poziomach studiów akademickich.

Doświadczenie naukowe Habilitantki zaowocowało propozycją recenzji projektów grantowych Uniwersytetu Jagiellońskiego, portugalskiej Fundacji Nauki i Technologii (por. *Fundação para a Ciência e a Tecnologia*) oraz brytyjskiego *Medical Research Council* (MRC). Recenzowała także publikacje dla kilku czasopism naukowych.

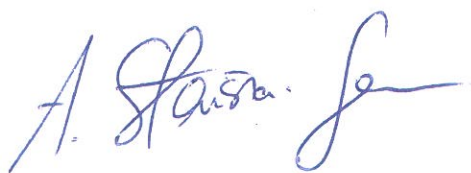
Dr Pękowska jest członkiem:

- Polskiego Towarzystwa Bioinformatycznego,
- *Regulome Project* NIH, którego celem jest zrozumienie regulacji transkrypcji w systemach ssaków przy użyciu najnowocześniejszych technologii, w tym Hi-C.

Podsumowanie i konkluzja

W podsumowaniu mojej recenzji chciałabym podkreślić, że dr Aleksandra Pękowska jest obiecującym badaczem, o wyróżniającym się dorobku naukowym. Jej osiągnięcia naukowe są nowatorskie, postawione cele badawcze wpisują się w najistotniejsze zagadnienia nauki, a podejmowane przez nią zagadnienia badawcze są bardzo ambitne. Habilitantka swobodnie wykorzystuje nowoczesne techniki genetyki molekularnej oraz implementuje analizy bioinformatyczne do opracowywania uzyskanych wyników. Aktywnie pogłębia swoją wiedzę i warsztat w dziedzinie biologii obliczeniowej i wysokoprzepustowych technik analizy molekularnej. Dorobek naukowy dr Pękowskiej jest znaczący - wskaźnik Hirscha Jej dorobku wynosi 13, łączny współczynnik wpływu wszystkich publikacji wynosi 275,6. Prace były cytowane 1585 razy (bez autocytowań, wg bazy Web of Science z dnia 23.03.2023 r.). Dr Pękowska rozwija liczne współprace naukowe, popularyzuje naukę, z sukcesem zdobywa fundusze niezbędne do prowadzenia badań. Kieruje zespołem badawczym we wiodącym ośrodku naukowym, jakim jest Instytut Biologii Doświadczalnej PAN im. Marcelego Nenckiego w Warszawie.

W mojej ocenie dorobek naukowy dr Pękowskiej jest wybitny, a Jej prace w znaczący sposób wpływają na rozwój wiedzy na temat struktury chromatyny i jej wpływu na regulację ekspresji genów w jądrze komórkowym. Po szczegółowej analizie Osiągnięcia naukowego, pozostałego dorobku naukowego, działalności organizacyjnej i popularyzatorskiej oceniam, że wyniki pracy dr Aleksandry Pękowskiej w pełni spełniają kryteria stawiane osobom ubiegającym się o stopień naukowy doktora habilitowanego, zgodnie z art. 219 Ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” z dnia 20 lipca 2018 r. – Dz. U. z 2021 r. poz 478 zm. Wnoszę do Komisji Habilitacyjnej o podjęcie uchwały w sprawie nadania dr Aleksandrze Pękowskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



Dr hab. Anna Stanisławska-Sachadyn, prof. PG