

ul. Strzeszyńska 32
60-479 Poznań

tel. +48/61/657 91 00
fax +48/61/823 32 35
e-mail: igcz@man.poznan.pl

www.igcz.poznan.pl

prof. dr hab. Maciej Giefing
z-ca dyrektora ds. naukowych
kierownik Zakładu Genetyki Nowotworów
e-mail: giefingm@man.poznan.pl

Recenzja Osiągnięcia Naukowego pt.

**„Struktura chromatyny w jądrach komórek ssaków: dynamika rozwojowa, wkład w kontrolę ekspresji genów oraz mechanizmy kontrolujące”
oraz pozostałych osiągnięć naukowych
w postępowaniu habilitacyjnym dr Aleksandry Pękowskiej**

1) Życiorys naukowy

Dr Aleksandra Pękowska jest absolwentką wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Pracę magisterską obroniła w 2005 roku. Następnie jej zainteresowania naukowe skupiły się na epigenetyce, co zaowocowało obroną pracy doktorskiej w 2011 roku zatytułowanej: *„Krajobraz epigenetyczny prawidłowej i złośliwej limfohematopoezy: interakcje pomiędzy sygnaturą chromatyny a ekspresją genów tkankowo-specyficznych”* na Université de la Méditerranée w Marsylii we Francji. Po uzyskaniu stopnia doktora, habilitantka kontynuowała badania z obszaru epigenetyki i odbyła staż podoktorski w prestiżowych Europejskim Laboratorium Biologii Molekularnej (EMBL) w Heidelbergu w Niemczech oraz w Europejskim Laboratorium Bioinformatyki w Cambridge w Wielkiej Brytanii. Następnie kontynuowała mobilność naukową i przeniosła się do laboratorium Lymphocyte Nuclear Biology w Bethesda w Stanach Zjednoczonych Ameryki,

wchodzącym w skład Narodowych Instytutów Zdrowia (NIH). Piękna ścieżka naukowa zaowocowała uzyskaniem prestiżowego grantu Dioscuri i powrotem do Polski. Grant ten jest współfinansowany przez Narodowe Centrum Nauki ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Rzeczypospolitej Polskiej oraz Ministerstwa Edukacji i Badań Naukowych Republiki Federalnej Niemiec. W ramach przyznanego finansowania habilitantka w 2019 roku utworzyła grupą badawczą w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, PAN skupiającą się na poznaniu genetycznych i epigenetycznych mechanizmów rządzących tożsamością komórkową.

2) Ocena Osiągnięcia Naukowego – cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. Pkt 2b Ustawy

Osiągnięcie Naukowe przedstawione do recenzji stanowi cykl pięciu prac opublikowanych w latach 2017-2022 pod zbiorczym tytułem: „*Struktura chromatyny w jądrach komórek ssaków: dynamika rozwojowa, wkład w kontrolę ekspresji genów oraz mechanizmy kontrolujące*”. W trzech z nich habilitantka jest pierwszą lub ostatnią autorką, w dwóch pozostałych drugą. Wszystkie są pracami z listy filadelfijskiej o imponującym współczynniku oddziaływania IF w zakresie 10,710-63,581 i sumarycznym IF osiągnięcia na poziomie blisko 170 punktów (współczynnik 5-letni). Prace są efektem bardzo dobrze wykorzystanych publikacyjnie staży podoktorskich. Godnym podkreślenia jest także fakt bardzo dużej spójności tematycznej omawianego osiągnięcia co świadczy o konsekwencji naukowej habilitantki i pokazuje proces rozwoju własnego nurtu badawczego. Prace dotyczą architektury chromatyny w jądrze oraz wpływu białka CTCF jak i innych czynników na jej zmiany i wynikające z tego mechanizmy regulacji ekspresji genów, tożsamości komórki czy odpowiedzi immunologicznej. Chciałbym w tym miejscu podkreślić niezwykle ważną wagę naukową publikacji wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego. Są to prace o fundamentalnym znaczeniu dla zrozumienia powyższego zagadnienia, istotnie wzbogacające wiedzę naukową w tym obszarze.

Do przygotowanej dokumentacji habilitantka dołączyła autoreferat wprowadzający w zagadnienie, będące przedmiotem jej naukowych zainteresowań. Mam kilka uwag do formy przygotowanego autoreferatu. W większości ma on charakter ciekawego wykładu jednak w zbyt małym stopniu odnosi się do cyklu publikacji stanowiącego główny element oceny. Dodatkowo odbiór autoreferatu znacznie utrudnia fakt usilnie wprowadzanych przez habilitantkę polonizmów. Koronnym przykładem może być chociażby polskie „DAT”

zamiast angielskiego TAD, co samo w sobie jest próbą godną pochwały jednak w tekście naukowym stanowi niepotrzebne utrudnienie w jego odbiorze. Jest to jednak uwaga natury technicznej nie ujmująca w żadnym stopniu znaczenia omawianego osiągnięcia. Przejdę teraz do omówienia poszczególnych publikacji cyklu.

Podstawowym a zarazem bardzo istotnym i ciekawym odkryciem dokonany przez habilitantkę w ramach pierwszej pracy, było opisanie zjawiska wzmocnienia domen topologicznych w jądrze komórkowym podczas procesu ustalania tożsamości i różnicowania komórek. Wynik ten przyczynia się do lepszego rozumienia molekularnego podłoża plastyczności pluripotencjalnych komórek embrionalnych. Jak wykazuje habilitantka, proces różnicowania komórek wiąże się ze zmianami topologii genomu i indukcją dużej liczby pętli chromatynowych. Idąc dalej habilitantka wykazała, że zwiększenie liczby pętli podczas różnicowania koreluje z siłą wiązania CTCF, co daje lepszy wgląd w maszynę białkową regulującą te podstawowe procesy biologiczne. Tym samym, jak słusznie konkluduje habilitantka, utrata plastyczności rozwojowej wiąże się ze stopniową konsolidacją pętli i granic domen topologicznych. Praca ta pozwoliła ponadto na wygenerowanie unikatowych map struktury chromatyny o bardzo wysokiej rozdzielczości 5 kpz. Na uznanie zasługuje także współudział habilitantki we wprowadzaniu nowych, przełomowych technik eksperymentalnych takich jak metoda ilościowego porównania intensywności interakcji Hi-C czy wprowadzenie algorytmu wielokrotnego proporcjonalnego dopasowania odczytów pozwalającą na dużo lepszą wizualizację danych z eksperymentów wysokoprzepustowych Hi-C i TCC.

Zagadnienie podstawowego mechanizmu tworzenia się domen topologicznych jest pogłębione w drugiej publikacji wchodzącej w oceniany cykl. Praca ta ma fundamentalne znaczenie dla zrozumienia procesów rządzących wytłaczaniem pętli chromatyny i co za tym idzie, tworzeniu domen topologicznych. Jest to jedno z pierwszych doniesień na świecie uwidoczniające rolę kohezyn w tym procesie i stanowi znaczny wkład w literaturę przedmiotu. Tym samym praca przyczynia się do zrozumienia organizacji chromatyny w interfazie cyklu komórkowego.

Owocną kontynuacją zainteresowań naukowych habilitantki były badania przeprowadzone podczas stażu w Lymphocyte Nuclear Biology (NIH) w Bethesda, w Stanach Zjednoczonych Ameryki. Odkryła ona powtarzające się interakcje łączące miejsca CTCF zlokalizowane na granicach domen topologicznych z elementami wewnątrz domen. Wykazała następnie, że wiązanie CTCF do DNA jest niezbędne dla powstałych interakcji oraz powiązała ten proces z obecnością super-enhancerów w genomie i wspólnym wpływem

badanych elementów na regulacje ekspresji genów. Opisane interakcje habilitantka przedstawiła na spójnym modelu. Ze względu na graficzną prezentację interakcji przy użyciu algorytmu opracowanego przez habilitantkę i wykorzystującego narzędzia obróbki obrazu oddziaływania te są wizualizowane w postaci pasków nazwanych paskami architektonicznymi. Termin współtworzony przez habilitantkę wszedł na stałe do terminologii przedmiotu. Chciałbym podkreślić, że scharakteryzowane tutaj pokrótce odkrycia, będące efektem pionierskich badań habilitantki są rangi absolutnie światowej.

Z racji moich zainteresowań naukowych dotyczących genetyki nowotworów, niezwykle ciekawym dla mnie jest także odkrycie przez habilitantkę powiązania pomiędzy regionami działania topoisomerazy 2b w genomie a „hot-spotami” pęknięć DNA i obecnością translokacji chromosomowych w nowotworach człowieka. Habilitantka zauważa, że enzym ten działa w pobliżu tworzących się pętli chromatyny, na zewnątrz kotwic CTCF. Może to stanowić jeden z podstawowych mechanizmów patogenezy na poziomie molekularnym szeregu chorób nowotworowych.

Dr Pękowska ma również znaczący wpływ na stworzenie koncepcji dotyczącej roli czynnika CTCF w kontekście ekspresji interferonu, kluczowego czynnika modulującego funkcjonowanie układu odpornościowego. Habilitantka współtworzyła opis struktury, a co za tym idzie także mechanizmu molekularnego funkcjonowania tego konkretnego locus u myszy. Jej wkład w omawiane badania był zarówno konceptualny jak i czynny. Habilitantka przeprowadzała konkretne eksperymenty w tym analizę i interpretację danych lokalnego Hi-C.

W ostatniej z omawianych publikacji wchodzących w skład osiągnięcia, habilitantka dokonuje bardzo ważnego przeglądu opublikowanych danych literaturowych dotyczących roli czynnika CTCF w biologii genomu. Praca ta stanowi przydatne usystematyzowanie dotychczasowej wiedzy w tym obszarze. Co istotne, habilitantka formułując także listę niezwykle trafnych pytań badawczych, na które nauka powinna dostarczyć odpowiedzi aby w pełni wyjaśnić mechanizmy kształtujące architekturę genomu. Pytania te mogą stanowić inspirację dla innych naukowców oraz badaczy młodszego pokolenia chcących prowadzić badania naukowe w tym obszarze. Istotnym elementem tej publikacji, który oceniam wysoko, jest zebranie dostępnej wiedzy na temat konsekwencji mutacji CTCF w kontekście patogenezy chorób neurologicznych człowieka.

Podsumowując, stwierdzam że wśród wskazanych do oceny osiągnięć znajduje się cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w

wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b. Jednocześnie cykl ten oceniam bardzo wysoko i stwierdzam, że stanowi on niewątpliwie znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne.

3) **Ocena pozostałych osiągnięć naukowych, organizacyjnych oraz dorobku dydaktycznego**

Dr Aleksandra Pękowska po uzyskaniu stopnia doktora opublikowała 11 prac naukowych z listy filadelfijskiej z wyłączeniem prac wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego. Prace te posiadają bardzo wysoki, łączny współczynnik oddziaływania IF 5-letni > 160 . W pięciu z nich jest pierwszym, drugim lub ostatnim autorem. Poziom cytawalności tych prac jest bardzo dobry i przekracza obecnie 600 cytowań. Co istotne, prace te wykazują bardzo dużą spójność tematyczną z głównym nurtem badawczym habilitantki co obrazuje dużą konsekwencję a co za tym idzie, zbudowaną ekspertyzę habilitantki w danym obszarze nauki. **Stwierdzam, że pozostałe osiągnięcia naukowe habilitantki stanowią również znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne.** Prace te w znaczny sposób poszerzają nasze rozumienie mechanizmów rządzących trójwymiarową strukturą chromatyny a także interakcjami pomiędzy jej składowymi. Wskazują również wpływ poszczególnych białek takich jak Myc czy ZMYND8 na funkcjonowanie chromatyny w procesach związanych z dojrzewaniem limfocytów.

Uznanie budzi także niezwykle ważna umiejętność habilitantki, typowa dla samodzielnych pracowników nauki, jaką jest zdobywanie funduszy na badania naukowe. Dr. Pękowska kierowała już siedmioma projektami badawczymi w tym tak prestiżowymi jak EMBO Installation Grant czy grant Dioscuri. Uzyskanie na drodze konkursów finansowania dla tak wielu projektów badawczych świadczy o dużej zdolności to stawiania ważnych hipotez badawczych i projektowania badań. Są to cechy właściwe najlepszym samodzielnym pracownikom nauki.

Chciałbym również podkreślić bardzo dużą liczbę wykładów na zaproszenie wygłoszonych przez habilitantkę w Polsce i za granicą w tym podczas Gliwickich Spotkań Naukowych, Uniwersytecie Warszawskim czy EMBL w Heidelbergu. Dr Pękowska jest również członkiem Polskiego Towarzystwa Bioinformatycznego oraz amerykańskiego NIH Regulome Project. Wykazuje także dużą aktywność jako recenzent w cenionych przez społeczność naukową czasopismach takich jak *Nuclei Acid Research* czy *Bioinformatics*. Od roku 2019, dzięki pozyskaniu wspomnianego grantu Dioscuri, utworzyła własną grupę badawczą nazwaną *Centrum Dioscuri Biologii Chromatyny i Epigenomiki* w instytucie

Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN gdzie kontynuuje badania nad organizacją genomu. Habilitantka nadzoruje pracowników naukowych na różnych etapach kształcenia tj. magistrantów, doktorantów i osób po doktoracie co wskazuje na dobre umiejętności zarządzania grupą badawczą jak i umiejętności organizacyjne. Drobnym niepokój budzi natomiast fakt dlaczego pomimo kierowania blisko od pięciu lat grupą badawczą oraz uzyskania znacznych środków finansowych habilitantka nie opublikowała żadnej pracy oryginalnej z autorstwem korespondencyjnym / senioralnym.

Podsumowując stwierdzam, że aktywność naukowa habilitantki jest w pełni adekwatna do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

4) Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawione do recenzji Osiągnięcie Naukowe w postaci cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zatytułowane: „Struktura chromatyny w jądrach komórek ssaków: dynamika rozwojowa, wkład w kontrolę ekspresji genów oraz mechanizmy kontrolujące” jak i pozostałe osiągnięcia naukowe Pani dr Aleksandry Pękowskiej stanowią znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki biologicznej i spełniają wymagania stawiane kandydatom na stopień doktora habilitowanego, zgodnie z kryteriami określonymi w art. 219 Ustawy "Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U. z 2021 r. poz. 478 z późniejszymi zmianami). Tym samym, wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Aleksandrze Pękowskiej. Ze względu na bardzo duże znaczenie wyników naukowych opublikowanych przez habilitantkę dla rozwoju epigenomiki wnoszę do Rady Naukowej IBD PAN o wyróżnienie recenzowanej habilitacji.

Maciej Giefing