



Dr hab. n.med. Krystian Jażdżewski, prof. UW
PRACOWNIA MEDYCYNY GENOMOWEJ
Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Transplantacyjnej i Wątroby
Warszawski Uniwersytet Medyczny
02-097 Warszawa, ul. Banacha 1a, tel. (22) 599-21-89



Warszawa, dnia 14 sierpnia 2013r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr. inż. Tomasza Stokowy pt. "Selection of miRNA isoform markers differentiating between follicular thyroid cancer and follicular thyroid adenoma from high-throughput sequencing data" napisanej pod nadzorem promotora dra hab. inż. Krzysztofa Fajarewicza, prof. Politechniki Śląskiej, oraz promotora pomocniczego dra n. med. Michała Jarząba.

Miejsce wykonania pracy to Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki Politechniki Śląskiej. Rozprawę otrzymałem w formie monografii o tytule jak wyżej, napisanej w języku angielskim, liczącej 88 stron o typowym układzie – wstęp, cele, materiał, metody, wyniki, dyskusja, wnioski, wykaz stosowanych skrótów, bibliografia, całość uzupełniona o spis publikacji autora rozprawy.

Celem pracy było zaproponowanie optymalnej metody analizy wyników sekwencjonowania genomowego (Next-Generation Sequencing, NGS) transkryptomu mikroRNA człowieka zmierzającej do stworzenia klasyfikatora różnicującego próbki raka pęcherzykowego tarczycy od próbek łagodnego gruczolaka tarczycy. Cel uważam za istotny z punktu widzenia obecnego stanu wiedzy nad metodami analizy wyników NGS oraz medycznej potrzeby zdobycia lepszego narzędzia wspierającego diagnostykę nowotworów gruczołu tarczowego.

RAU	Biuro Dziekana
	Wpłynęło dnia 20.02.13
	Nr 391 / zał.

Analiza danych sekwencjonowania genomowego jest ciągle zadaniem niezwykle ambitnym i trudnym. Dla Doktoranta z pewnością stanowiła olbrzymie wyzwanie, z którym poradził sobie doskonale. Podkreślić należy, że Doktorant należy do bardzo wąskiego grona polskich specjalistów, którzy są w stanie analizę danych sekwencjonowania genomowego przeprowadzić. Istotne jest również, że w chwili obecnej nie znajdujemy w literaturze światowej doniesienia dotyczącego wyników sekwencjonowania genomowego transkryptomu mikroRNA raka pęcherzykowego tarczycy.

Za główne osiągnięcia pracy uważam:

- zaproponowanie trzech alternatywnych podejść do opracowania danych NGS w kontekście sekwencji i ekspresji genów z klasy mikroRNA z uwzględnieniem najnowszej wiedzy dotyczącej isoform długości mikroRNA, jak i koncepcji "mocy jąder wiązania (ang. "binding seed power");
- zaproponowanie metody opracowania danych NGS mające na celu ich porównanie z dotychczasową wiedzą dotyczącą ekspresji genów z klasy mikroRNA opartą o dane mikromacierzowe i eksperymenty z wykorzystaniem ilościowego czy też półilościowego PCR w czasie rzeczywistym; szczególnie porównanie wyników NGS z wynikami mikromacierzowymi wymaga szerokiej wiedzy i istotnego nakładu pracy;
- wprowadzenie oryginalnej modyfikacji do klasycznej metody drzewa decyzyjnego, które właściwie zastosowane umożliwiło optymalną selekcję możliwie małej liczby cech poprawnie klasyfikujących badane próbki; modyfikacja Doktoranta pozwoliła mu wybrać dwa geny prawidłowo klasyfikujące 20 z 24 analizowanych próbek.

Zważywszy na powyższe osiągnięcia uważam, że cel pracy został osiągnięty.

Uwagi krytyczne:

Nie wiemy, jak został przeprowadzony eksperyment sekwencjonowania genomowego. Nie mamy informacji, jaki materiał został poddany sekwencjonowaniu (tkanka raka? bioptyaty? krew? osocze?). Doktorant określa materiał jako "snap frozen", co daje nam pewność, że jakkolwiek materiał został pobrany, to bez wątplenia zaraz po pobraniu został zamrożony.

Nie wiemy, czy zsekwencjonowano DNA czy RNA (domyślamy się, że RNA). Jeśli zsekwencjonowano RNA, to nie wiemy czy całkowite, czy jakąś jego frakcję (domyślamy się, że frakcję <50nt). Podanie tych danych byłoby wskazane, ale zważywszy, że praca ma charakter teoretyczny z zakresu analizy danych, a nie charakter praktyczny czy eksperymentalny z zakresu medycyny tudzież biologii medycznej, brak tych danych można zaakceptować. Dla rozważań teoretycznych nie ma znaczenia, w jaki sposób dane są pozyskane i czy są wiarygodne z biologicznego punktu widzenia, czego w istocie ze względu na powyższe braki w opisie metodologii nie jestem w stanie ocenić.

Zważając na teoretyczny charakter rozprawy, pomijam również aspekt tzw. walidacji, którą doktorant opisuje pod hasłem "qPCR". Należy go pominąć również ze względu na brak opisu przeprowadzonego eksperymentu i wynikającą z tego niemożność dokonania oceny jego wartości.

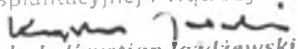
We wstępie, z pewnością trudnym dla Doktoranta o wykształceniu poza-biologicznym i poza-medycznym, skądinąd wstępie napisanym z wyraźną ambicją, Doktorantowi nie udało się uniknąć istotnych pomyłek. Wymienię jedynie kilka:

- str. 9 i dalej: "malignity" należy zastąpić słowem "malignancy";
- str. 10, rycina 1 i opis do niej: region 5'UTR znajduje się po prawej stronie schematycznego genu, a nie po lewej; odwrotnie dla regionu 3'UTR;
- str. 12, rycina 2: jednym z etapów dojrzewania mikroRNA jest dupleks miRNA-miRNA*, a nie miRNA-mRNA;
- str. 12: pre-miRNA powstaje z pierwotnego transkryptu, czyli RNA, a nie DNA.

Wymienione wyżej pomyłki nie wpływają na moją końcową, pozytywną ocenę rozprawy, w której Doktorant przedstawił oryginalne rozwiązanie postawionego zadania badawczego. Od Doktoranta wymagało to dużej wiedzy z zakresu teorii analizy danych i metod tworzenia klasyfikatorów, ale również wiedzy z zakresu genetyki i biologii mikroRNA. Ponadto Doktorant musiał opanować wiele dostępnych narzędzi obliczeniowych, jak również samodzielnie zaproponować i stworzyć własne narzędzia

(programy), bez których osiągnięcie celu pracy nie byłoby możliwe. W literaturze światowej nie znajdujemy rozwiązania problemu, którego podjął się Doktorant.

W mojej ocenie rozprawa doktorska mgr inż. Tomasza Stokowy spełnia kryteria określone w art.13 ust.1 i ust. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki. Z tego powodu wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Automatyki, Elektroniki i Informatyki Politechniki Śląskiej o dopuszczenie mgr inż. Tomasza Stokowy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Pracowni Medycyny Genomowej
Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej,
Transplantacyjnej i Wątroby WUM

dr hab. Krystian Jazdzewski

