

Gliwice, 19.11.2024

Dr hab. n. med. Jolanta Krajewska
Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej
Narodowy Instytut Onkologii im. M.Sklodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy
Oddział w Gliwicach

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Kurasz

Zmiany epigenetyczne w żywych komórkach – modelowanie procesu metylacji DNA

Rozprawa przygotowana przez mgr inż. Karolinę Kurasz powstała pod kierunkiem Prof. dr hab. Krzysztofa Fujarewicza w Katedrze Inżynierii i Biologii Systemów Politechniki Śląskiej w Gliwicach.

Regulacja ekspresji genów przez mechanizmy epigenomiczne stała się w ostatnich latach głównym tematem zainteresowania biologii systemów. Podejście do tego zagadnienia jest wielorakie. Doktorantka zastosowała bardzo interesujący sposób – poprzez tworzenie modeli matematycznych na podstawie wyników doświadczeń. Obiektem jej zainteresowania stała się metylacja DNA, a konkretnie przebieg demetylacji 5-metylocytozyny. Autorka chciała dołożyć swoją cegiełkę do wyjaśnienia udziału białek TET w procesie demetylacji DNA poprzez dobór struktury modelowania matematycznego. Doktorantka postanowiła badać ten proces przez porównanie wyników eksperymentalnych przeprowadzonych na 5 liniach komórkowych, w tym 4 linii komórek nowotworowych (Raji, Me45, K562, HCT 116) oraz jednej linii komórkowej prawidłowych ludzkich fibroblastów (NHDF). Biorąc pod uwagę fakt, że procesy metylacji i związanej z tym demetylacji DNA są niezwykle istotne dla karcynogenezy, uważam ten dobór za bardzo dobrze uzasadniony.

Wyniki eksperymentalne dostarczyły jej następujących, mierzalnych danych: średniego poziomu ekspresji badanych genów, w tym AID, SMUG1, TDG, DNMT1 oraz TET1-3, uzyskanego metodą RT-qPCR. Autorka skupiła się na roli enzymów TET w procesie demetylacji. Wybór obiektu badań jest słuszny, ponieważ nie jest jasne, jaką konkretną rolę

odgrywają te enzymy. Dysponowała również danymi co do ilości produktów metylacji oraz produktów pośredniej demetylacji w postaci deoksynukleotydów. Pomiar ten został wykonany metodą łączącą dwuwymiarową ultra-wydajną chromatografię cieczową z tandemową spektrometrią mas. Dane te wykorzystwała przy formułowaniu swojego modelu matematycznego. W modelu tym uwzględniła szlak demetylacji pochodnych form 5-metylocytozyny katalizowanej przez enzymy TET. Istotne więc były dla niej poziomy 5-hydroksymetylocytozyny i powstałego 5-hydroksymetylouracylu. Autorka oceniła zdolność predykcyjną zbudowanego modelu na podstawie walidacji krzyżowej leave-one-out. Po przeprowadzonej analizie wnioskuje, że białka TET mogą działać w każdej linii komórkowej z inną wydajnością. Różnice w modelach matematycznych dają się wyjaśnić różnym udziałem poszczególnych form TET w demetylacji cytozyny.

W dalszej części pracy Autorka zastanawiała się nad doborem struktury zastosowanego modelu matematycznego. Jej rozważania przeczytałam z wielkim zainteresowaniem, jednak jako lekarz zainteresowany patomechanizmem transformacji nowotworowej nie mogę się podjąć ich oceny. Doceniam jednak analizę symulacji dziesięciu najlepszych modeli, która może przybliżyć nas do lepszego zrozumienia tego procesu i do tworzenia hipotez, które następnie mogą być sprawdzone eksperymentalnie. Autorka przekonująco wnioskuje, że zaproponowany przez nią rodzaj modelowania może stanowić narzędzie do badań nie tylko enzymów TET, ale także do innych ważnych procesów komórkowych.

Pragnę podkreślić, że praca doktorska opiera się na doskonałej publikacji w Epigenomes z 2024 roku, której Doktorantka jest pierwszym Autorem. Ponadto przedstawiła doniesienia konferencyjne, które uzupełniają wyniki, a końcowe wnioski podsumowała w świetnym manuskrypcie wysłanym do SN Computer Science, który został zaakceptowany do publikacji.

W podsumowaniu chciałabym zaznaczyć, że mgr inż. Karolina Kurasz udowodniła, iż potrafi przeprowadzić pracę naukową i swoją pracą doktorską wypełniła wszystkie ustawowe kryteria przedstawione w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Dlatego wnioskuje do Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej o dopuszczenie Doktorantki Karoliny Kurasz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

