



Instytut Genetyki i Biotechnologii  
UNIwersytet Warszawski  
WYDZIAŁ BIOLOGII

ul. PAWIŃSKIEGO 5A, 02-106 WARSZAWA

TEL: (+22) 592-22-44, FAX: (+22) 658-41-76

<http://www.igib.uw.edu.pl>



Prof. dr hab. Ewa Bartnik

tel.0048 22 592 22 40

e-mail: [ebartnik@igib.uw.edu.pl](mailto:ebartnik@igib.uw.edu.pl)

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Anny Chabros pt. „Patogenność mutacji w genie *GDAP1*”

Promotor – prof. dr hab. Andrzej Kochański

Promotor pomocniczy – dr hab. Dagmara Kabzińska

Choroba Charcot-Marie-Tooth jest silnie związana z początkami całogenomowego sekwencjonowania w celu diagnostyki molekularnej – słynna praca Whole-genome sequencing in a patient with Charcot-Marie-Tooth neuropathy ukazała się w 2010 r., i jej 1. autorem i zarazem obiektem badań był James Lupski; wówczas znano 39 genów, w których mutacje powodowały tę chorobę, obecnie jest ich sporo więcej. Doktorantka skupiła się na jednym z nich – genie *GDAP1*. Celem pracy było określenie czy i jakie mutacje w innych genach towarzyszą mutacjom w *GDAP1* u pacjentów i czy istnieją korelacje genotyp-fenotyp – czy ciężkość objawów u pacjentów jest związana z dodatkowymi mutacjami. Drugi cel był bardziej molekularny – określenie jakie zaburzenia występują w komórkach, do których wprowadzane są niezmodyfikowane i zmutowane wersje badanego genu. Praca miała też trzeci cel – próbę opracowania modelu oceny patogenności mutacji w badanym genie. Dwa wymienione cele zostały zrealizowane, trzeci ze względu na kompleksowe efekty badanych mutacji nie został osiągnięty.

Praca ma klasyczny układ, jest dobrze napisana, jedyna ogólna uwaga, że małe czarno-białe zdjęcia jako dokumentacja barwień fluorescencyjnych nie są zbyt dogodne, mogłam oczywiście poprosić o wersję elektroniczną i oglądać je na ekranie, ale ze względu na naprawdę obszerną dokumentację to by nie było realne.

Mam trochę różnych uwag, od czegoś, co uważam za bardzo istotne, ekson, nigdy egzon, słowo to zostało wprowadzone jako coś, co jest związane z ekspresją – jest to

dokładnie opisane w Wikipedii "The term *exon* derives from the expressed region and was coined by American biochemist Walter Gilbert in 1978: "The notion of the cistron... must be replaced by that of a transcription unit containing regions which will be lost from the mature messenger – which I suggest we call introns (for intragenic regions) – alternating with regions which will be expressed – exons." Autorka stosuje zresztą prawidłową pisownię w słowniczku ale potem przerzuca się na egzon. Podobnie, eksomu, nie egzomu na str. 12.

Żeby zakończyć drobne uwagi – postranslacyjny (str. 19) nie istnieje (potranslacyjny albo posttranslacyjny); na str. 30 „Wykazano, że brak GDAP1 bierze udział w regulacji procesów związanych z zapaleniem” jest niefortunnym skrótem myślowym.

W tabeli na str. 35 autorka nazywa wektorami to co standardowo jest nazywane konstrukcjami, na ogół wektor to coś do czego wprowadza się badany gen.

Po polsku mówi się adnotacja, nie anotacja (str. 40). No i (str. 109) wariantów, nie wariatów.

Jedna jeszcze uwaga – akapity nie powinny być kilkustronicowe, to utrudnia czytanie, ale myślę, że pani mgr Chabros raczej już nie będzie pisać tak długiej pracy (z tak długimi akapitami) po polsku.

W literaturze część pozycji ma niekompletne cytowania – nie ma stron ani tomu (np. 50, 70, 83, 84, 106, 118); no i nie jest jasne czym jest pozycja 4.

Przechodząc do uwag merytorycznych, brakuje mi informacji o obecnym wieku pacjentów – na ogół choroby tego typu mają objawy, które pogarszają się z upływem czasu, tabela podaje tylko w jakim wieku pojawiły się objawy.

Ze względu na brak podanego wieku pacjentów nie wiem czy świadome zgody nie były też uzyskiwane od opiekunów/rodziców – podane jest na str. 37, że od pacjentów, no ale ja nie wiem w jakim oni są wieku.

Rycina 4 – nie jest wyjaśnione, co oznaczają zaczernione ćwiartki (w rodzinie R1), standardowo to oznacza jakieś konkretne objawy, ale to nie jest podane.

Nie do końca mi się podoba średnia liczba mutacji u poszczególnych grup pacjentów z daną mutacją, wydaje mi się, że grupy były stosunkowo niewielkie, i wolałabym oprócz średniej zakres od ilu do ilu mutacji występuje.

Oceniając uzyskane przez doktorantkę wyniki, uważam, że są bardzo interesujące. To, że wiele chorób nie jest *strictly* monogenowych, ale że na fenotyp wpływają także inne mutacje nie jest czymś nowym, jest efektem coraz częstszego sekwencjonowania czy to eksomów czy genomów pacjentów, ale takie badania nie były przeprowadzone wcześniej dla pacjentów z mutacjami w genie *GDAP1*. I tu także widać, że im więcej dodatkowych mutacji

tym gorzej, co zresztą jest intelektualnie zadawalające, bo jeśli te mutacje coś wnoszą – a dokładniej coś psują/jakoś przeszkadzają w normalnym funkcjonowaniu organizmu – to takich efektów należało się spodziewać.

Praca ma sporą część dotyczącą biologii komórkowej, z bardzo dobrze przemyślanym i uzasadnionym stosowaniem dwu różnych linii komórkowych – jednej neuronalnej, a drugiej wprawdzie nie neuronalnej ale o niskiej endogennej ekspresji badanego genu.

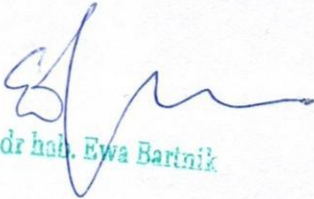
To czego mi trochę brakuje to jest próby określenia co się dzieje w komórce pod kątem poziomu białka GDAP1 – czy jest go więcej/mniej bo nie zachodzi/zachodzi wydajna translacja/transkrypcja? To znaczy bym chętnie widziała trochę badań poziomu mRNA dla GDAP1, bo nie mam jasności co się dzieje w komórkach. Także bym wolała omówienie choćby w paru zdaniach co wiadomo o tych mutacjach, które są badane. Jednak te uwagi są naprawdę drobne w odniesieniu do szeroko zakrojonych badań eksperymentalnych wykonanych przez panią mgr Chabros. To co jest istotne, jest przebadanie siedmiu różnych mutacji w genie *GDAP1*, i ciekawy wniosek dotyczący efektów mutacji w tym genie na część *trans* aparatu Golgiego. Bardzo mi się podoba dyskusja, szczególnie wnikliwy opis istotności nie tylko znajdowania mutacji, ale także ustalania ich realnej patogenności.

Autorka wykazała się umiejętnością planowania i przeprowadzania oraz analizy wyników skomplikowanych doświadczeń. Z lektury wstępu i dyskusji wynika też jej świetna znajomość obszernej literatury dotyczącej prowadzonych badań – spora część cytowanej literatury (118 pozycji) jest z kilku ostatnich lat, a także widać głębokie zrozumienie uzyskanych wyników w świetle danych literaturowych.

Zwracam się więc do Komisji ds. Przewodów i Postępowań Doktorskich Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN o dopuszczenie pani mgr Katarzyny Anny Chabros do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę też o wyróżnienie pracy odpowiednią nagrodą. Praca jest obszerna, i obejmuje zarówno zagadnienia powiązania genotyp-fenotyp u pacjentów jak i szeroko zakrojone badania molekularne. Doktorantka jest współautorką 4 publikacji z listy filadelfijskiej, 2 przeglądowych i 2 eksperymentalnych, po jednej z obu kategorii opublikowanych w *International Journal of Molecular Sciences* (IF<sub>2021</sub> 6,2), jedna eksperymentalna ukazała się w *Genes* (IF około 4) a jedna w *Postęпах Biochemii*, prace są ściśle związane z prowadzonymi w ramach doktoratu badaniami, z wyjątkiem jednej z prac przeglądowych, która dotyczy modelu drożdży *S. cerevisiae* stosowanego do badania pewnych neuropatii. Sama rozprawa doktorska jest wnikliwą analizą mutacji w genie *GDAP1* i ich efektów na poziomie komórki. Warto podkreślić, że praca ma wiele elementów nowatorskich – jak choćby wykrycie wpływu

badanych mutacji na aparat Golgiego czy bardzo interesująca opracowana skala dla genotypów i fenotypów pacjentów. Ważny jest też wniosek, że zagadnienie patogenności mutacji w genie *GDAP1*, pozostaje nadal problemem, który wymaga badań dla każdej nowej znalezionej mutacji, nie ma schematu, który by umożliwił łatwe określenie patogenności.

Warszawa 6.03.2023



Prof. dr hab. Ewa Bartnik