

Poznań, 16.01.2023

**Ocena dorobku naukowego i osiągnięcia naukowego
dr Magdaleny Masłoń stanowiącego podstawę do przeprowadzenia postępowania
habilitacyjnego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki
biologiczne**

Recenzję sporządziłam w oparciu o zestaw dokumentów obejmujących m.in: i) autoreferat, ii) wykaz osiągnięć naukowych Habilitantki oraz iii) deklaracje poszczególnych autorów publikacji zaprezentowanych w autoreferacie. Wszystkie wyżej wymienione dokumenty zostały przedstawione w wersji polskiej i angielskiej.

Dr Magdalena Masłoń uzyskała tytuł doktora nauk przyrodniczych na Uniwersytecie Edynburskim w 2012 roku. Następnie, odbyła kilkuletni staż podoktorski w grupie prowadzonej przez profesora Javiera Caceres'a w *MRC Human Genetics Unit, Institute of Genetics and Cancer* na Uniwersytecie Edynburskim. Jako osiągnięcie naukowe Habilitantka przedstawiła cykl trzech prac eksperymentalnych, które powstały w czasie odbytego stażu podoktorskiego.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe dr Magdaleny Masłoń pt. „Rola ko-transkrypcyjnego i post-transkrypcyjnego metabolizmu RNA w regulacji ekspresji genów i w rozwoju embrionalnym” obejmuje trzy prace będące dziełem wielu autorów, w których Habilitantka jest pierwszym autorem lub pierwszym współautorem. Oświadczenia dr Magdaleny Masłoń oraz poszczególnych autorów pokazują na wiodącą rolę Habilitantki w każdej z prezentowanych prac. Prace te opublikowane były w międzynarodowych czasopismach z listy *Journal Citation Reports* o wysokim *Impact Factor* (*eLife*, *EMBO Journal*).

Cykl przedstawionych prac podejmuje tematykę ko-transkrypcyjnego i post-transkrypcyjnego metabolizmu RNA w kontekście zrozumienia fizjologii i rozwoju ssaków. W celu pełniejszego zrozumienia roli obróbki RNA i konsekwencji zmian w jego metabolizmie Habilitantka skupiła się na

określeniu funkcji jednego z białek zaangażowanych w splicing, SRSF1 (*serine and arginine rich splicing factor 1*). Tematyka dotycząca białek z rodziny SR oraz procesu dojrzewania RNA była realizowana w laboratorium profesora Javiera Caceres'a, do którego Habilitantka dołączyła po otrzymaniu tytułu doktora. Drugim zagadnieniem dotyczącym metabolizmu RNA, którym zainteresowała się dr Magdalena Masłoń była rola szybkości RNA polimerazy II w modulacji obróbki RNA jak również zrozumienie konsekwencji zaburzeń prędkości powstawania transkryptów w rozwoju osobniczym.

Habilitantka wykorzystując szerokie spektrum technik biologii molekularnej takich jak: tworzenie konstruktów i wprowadzanie ich do linii komórkowych, frakcjonowanie rybosomów, głębokie sekwencjonowanie RNA wykazała, że białko SRSF1 jest bezpośrednio zaangażowane w translację wielu mRNA, odpowiadając tym samym za zwiększoną produkcję określonych białek (Masłoń MM, et.al., *Elife*, 2014). Szczególnie interesująca jest obserwacja dotycząca zaangażowania SRSF1 w translację białek regulujących cykl komórkowy, organizację chromosomów oraz mitozę. Dr Magdalena Masłoń stosując analizy proteomiczne potwierdziła, rolę SRSF1 w translacji mRNA, których produkty białkowe regulują podziały komórkowe, tworzenie wrzeciona mitotycznego. Następnie, stosując techniki biologii komórkowej Habilitantka wykazała, że białko SRSF1 jest wymagane do prawidłowego przebiegu mitozy, a jego obniżony poziom, za pomocą siRNA, prowadzi do wydłużenia czasu w jakim komórka pozostaje na etapie metafazy, co w konsekwencji powoduje wzrost poziomu apoptozy w puli badanych komórek. W celu dodatkowego potwierdzenia translacyjnej roli SRSF1 w procesie regulacji cyklu komórkowego Habilitantka zaprojektowała specjalne konstrukty, prowadzące do ekspresji białka SRSF1 typu dzikiego lub chimerycznego SRSF1-NRS, które nie ulegało transportowi do cytoplazmy. Przeprowadzając eksperymenty typu *rescue* Habilitantka potwierdziła funkcję translacyjną białka SRSF1 i jego zaangażowanie w proces mitozy. Dr Magdalena Masłoń wykazała również, że białko SRSF1 może być zaangażowane w alternatywny splicing i regulację translacji tego samego transkryptu co oznacza sprzężenie dwóch funkcji o odmiennej lokalizacji tj. jądrowej i cytoplazmatycznej. Wyniki uzyskane przez Habilitantkę stanowią istotny wkład w poznanie roli białka SRSF1 oraz mechanizmu jego działania. Jest to szczególnie ważne w kontekście ostatnich doniesień dotyczących zaangażowania tego białka w proces nowotworzenia.

W dalszych badaniach dr Magdalena Masłoń skupiła się na analizie funkcji translacyjnej białka SRSF1 *in vivo* (Haward F, Masłoń MM, et.al., *Elife*, 2021). W celu udowodnienia, że białko SRSF1 uczestniczy aktywnie w translacji w organizmie Habilitantka wraz z doktorantką, którą się

opiekowała, „stworzyła” i wykorzystwała myszy model *Srsf1^{NRS/NRS}*. Co zasługuje na uwagę, myszy przeżywały etap rozwoju embrionalnego, co wskazuje, że na tym etapie rozwojowym funkcja translacyjna SRSF1 nie jest konieczna. Natomiast, po urodzeniu myszy zaczynały wykazywać nieprawidłowości fenotypowe takie jak ograniczenie wzrostu i wodogłowie. Jednym z powodów wodogłowie może być nieprawidłowe funkcjonowanie rzęsek wyścielających komory mózgu. W celu potwierdzenia zaburzeń w pracy rzęsek dr Magdalena Masłoń nawiązała współpracę z dr Patricia Yeyati z Uniwersytetu Edynburskiego. Współpraca doprowadziła do wykazania, z zastosowaniem mikroskopii elektronowej, zaburzeń w strukturze rzęsek, które prowadzą do obserwowanych zmian fenotypowych. Dodatkowo, analiza ruchliwości rzęsek z komórek nabłonka tchawicy myszy potwierdziła, że obecność SRSF1 w cytoplazmie jest istotne dla prawidłowego funkcjonowania rzęsek. W celu zrozumienia molekularnych podstaw działania SRSF1 *in vivo* Habilitantka wykonała analizę całkowitego RNA pobranego z mysz o różnym fenotypie oraz profilowanie rybosomalne z sekwencjonowaniem RNA dla materiału pobranego z komórek reprezentujących różne etapy rozwoju myszy. Szeroko zaplanowana ścieżka eksperymentalna pozwoliła Habilitantce na potwierdzenie funkcji translacyjnej białka SRSF1 *in vivo*, którą wcześniej wykazała w warunkach *in vitro*. Co zasługuje na uwagę Habilitantka wykazała, że rola białka SRSF1 jest coraz bardziej znacząca w miarę różnicowania się komórek. Jest to bardzo interesująca obserwacja pokazująca, że SRSF1 nie jest czynnikiem konstytutywnym, ale moduluje proces translacji na określonych etapach rozwoju osobniczego. Dodatkowo, Habilitantka zdefiniowała jakie mRNA są regulowane przez SRSF1. Przeprowadzona przez dr Magdalenę Masłoń analiza RNA z polisomów i analiza proteomiczna wykazała, że produkcja białek: DNAAF, DNAH, tektyny i N-DRC, odpowiadających za prawidłowe funkcjonowanie rzęsek, jest obniżona gdy zaburzona zostaje funkcja translacyjna białka SRSF1. Badania przeprowadzone przez Habilitantkę wskazały na nowe znacznie białka SRSF1 jako czynnika uczestniczącego w prawidłowym rozwoju poporodowym. Habilitantka wykazała, że SRSF1 regulując translację określonych mRNA wpływa na rozwój rzęsek a tym samym, w szerszym ujęciu, na program rozwojowy.

Obydwie prace eksperymentalne (Masłoń MM, *et.al.*, *Elife*, 2014; Haward F, Masłoń MM, *et.al.*, *Elife*, 2021) mają bardzo dużą wartość naukową. Przeprowadzone przez dr Magdalenę Masłoń badania na nowo zdefiniowały rolę białka SRSF1. Jest to nie tylko element maszyneryi splicingowej, ale również element maszyneryi translacyjnej, którego aktywność cytoplazmatyczna jest istotna dla prawidłowego przebiegu programu rozwojowego osobnika. Uzyskane przez Habilitantkę wyniki mogą pomóc w zrozumieniu chorób neurodegeneracyjnych związanych z zaburzeniem funkcjonowania rzęsek jak również w opracowywaniu nowych strategii leczenia.

Drugim zagadnieniem dotyczącym metabolizmu RNA, którym zainteresowała się Habilitantka były zmiany szybkości transkrypcji przez RNA polimerazę II i wpływ tych zmian na proces alternatywnego splicingu, w który zaangażowane jest białko SRSF1 jak również inne białka z rodziny SR (Maslon MM, et.al., EMBO J, 2019). Habilitantka podjęła próbę otrzymania mysiego modelu ze zmutowaną wersją RNA polimerazy II (*Polr2a^{R749H}*), wykorzystując metody klasyczne, a następnie technologie CRISPR/Cas9 jednakże mutacja okazała się letalna na wczesnym etapie embrionalnym. Dr Magdalena Masłoń wybrała inne podejście eksperymentalne oparte na wykorzystaniu komórek różnicujących się *in vitro* odzwierciedlających rozwój tkanki nerwowej. Analiza RNA z różnych typów komórek różnicujących się z dzikim typem i mutantem RNA polimerazy II pozwoliła Habilitantce na wniosek, że zmiany w splicingu są bezpośrednio spowodowane spowolnieniem tempa transkrypcji prowadzonej przez zmutowaną RNA polimerazę II. Dalsza analiza doprowadziła Habilitantkę do kolejnych bardzo ciekawych wyników dotyczących ekspresji grupy mRNA kodujących białka uczestniczące w tworzeniu synaps i zaangażowanych w sygnalizację synaptyczną. Dr Magdalena Masłoń wykazała, że zmniejszoną ekspresję, w komórkach ze zmutowaną RNA polimerazą II, wykazywały się te mRNA, których geny były bardzo długie jak np.: geny białek synaptycznych. Habilitantka zaproponowała model, w którym optymalna prędkość RNA polimerazy II jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania neuronów. Spowolnienie RNA polimerazy II wpływa negatywnie, szczególnie na ilość i obróbkę RNA transkrybowanych z bardzo długich genów, np.: kodujących białka synaptyczne, co w dalszej konsekwencji prowadzi do nieprawidłowego funkcjonowania układu nerwowego będącego przyczyną zaburzeń neurodegeneracyjnych i psychiatrycznych.

Uzyskane przez dr Magdalenę Masłoń wyniki są bardzo istotne ponieważ nie tylko poszerzają naszą wiedzę dotyczącą kinetyki powstawania transkryptów przy udziale RNA polimerazy II, ale wskazują etiologię chorób neurodegeneracyjnych. Zrozumienie molekularnych przyczyn zaburzeń pracy układu nerwowego jest kluczem do dalszych badań w poszukiwaniu nowych strategii terapeutycznych.

Ocena pozostałego dorobku naukowego i dydaktycznego

Na całkowity dorobek dr Magdaleny Masłoń składają się, oprócz 3 prac wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego, dodatkowe 3 prace powstałe po otrzymaniu tytułu doktora oraz 5 prac powstałych przed uzyskaniem stopnia doktora. Dorobek publikacyjny Habilitantki zasługuje na uznanie. Wszystkie prace opublikowane były w bardzo dobrych czasopismach naukowych o wysokim *Impact Factor* co świadczy o dużym doświadczeniu i ekspertyzie Habilitantki w tematyce

dotyczącej regulacji ekspresji genów w szczególności na poziomie metabolizmu i obróbki RNA. Dane naukometryczne opisujące dorobek publikacyjny Habilitantki pokazują, że sumaryczny *Impact Factor* wynosi 85,28, cytowania 486, a Indeks Hirscha 9. Dane te nie stanowią kryterium w ocenie jednakże ukazują jak duży dorobek naukowy osiągnęła już Habilitantka. Dorobek publikacyjny pokazuje również jakim szerokim wachlarzem technik biologii molekularnej, biologii komórki oraz metod bioinformatycznych posługuje się dr Magdalena Masłoń. Warto również podkreślić, że Habilitantka jest osobą bardzo prężnie działającą na polu naukowym o czym świadczą jej liczne współpracy w trakcie stażu podoktorskiego. Działalność Habilitantki obejmuje również wystąpienia na licznych konferencjach. Warto tu wskazać wystąpienia na *RNA Meeting* w Kyoto w 2016 roku, w Davos w 2013 roku lub na *RNA UK Meeting* w 2014 roku. Działalność Dr Magdalena Masłoń była również wielokrotnie zauważana i nagradzana. W 2019 roku Habilitantka otrzymała *Nick Hastie Career Award* dla obiecujących naukowców wśród naukowców pracujących w *Institute of Genetics and Cancer* na Uniwersytecie Edynburskim. Dr Magdalena Masłoń wykazała się także umiejętnościami organizacyjnymi. Była współtwórczynią i współorganizatorką klubu ediRNA. Działalność klubu umożliwiała spotkania naukowe i wymianę doświadczeń badaczy różnych kampusów uniwersyteckich i instytutów w Edynburgu.

Dr Magdalena Masłoń zarówno w trakcie doktoratu jak i stażu podoktorskiego opiekowała się magistrantami i doktorantami jak również prowadziła kursy dla doktorantów i brała udział w panelach ewaluacyjnych dla doktorantów. Zdobyte doświadczenie w pracy ze studentami i doktorantami na pewno będzie bardzo użyteczne w opiece nad własnymi doktorantami ponieważ Habilitantka otrzymała finansowanie SONATA BIS z Narodowego Centrum Nauki na lata 2021-2026. Dodatkowo, uzyskała stypendium Polskie Powroty z NAWA na lata 2022-2025. Pozyskiwanie środków na badania jest bardzo ważną umiejętnością, świadczy również o dojrzałości i gotowości dr Magdaleny Masłoń do samodzielnej drogi naukowej.

Podsumowanie

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe Habilitantki stanowi cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych oraz wnosi ono bardzo znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki biologicznej tym samym spełnia wymogi Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku (Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce) o nadaniu stopnia doktora habilitowanego.

Wyrażam pozytywną opinię dotyczącą dorobku naukowego jak i dydaktycznego Habilitantki i wnoszę do Rady Naukowej dyscypliny nauki biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Magdalenie Masłoń.

Dr hab. Agata Świątkowska

A. Świątkowska