



MUZEUM I INSTYTUT ZOOLOGII, POLSKA AKADEMIA NAUK
ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa
Tel.: (48 22) 629 32 21, Tel./Fax: (48 22) 629 63 02, e-mail:
sekretariat@miiz.waw.pl

UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI

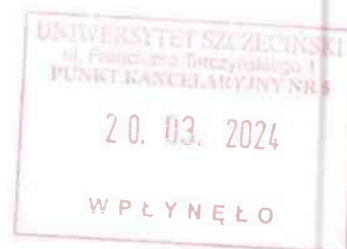


RPW/5416/2024 P
Data: 2024-03-20

Warszawa, dnia 18.03.2024

Prof. dr hab. Tadeusz Malewski

Pracownia Technik Molekularnych i Biometrycznych



RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Barbary Wąsowicz pt. „Polimorfizm regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA mieszkańców województwa zachodniopomorskiego w kontekście powojennej historii regionu“

Mitochondria są, poza jądrem komórkowym, jedynymi organellami w komórkach zwierzęcych, które posiadają własny genom. Obecność materiału genetycznego w mitochondriach odkryto w latach 60. XX wieku. Dalsze badania doprowadziły do poznania całkowitej sekwencji ludzkiego mitochondrialnego DNA, którą opublikowano w 1981 roku. Obecnie określana jako Cambridge reference sequence (CRS), jest ona sekwencją mtDNA z łożyska pojedynczej osoby pochodzenia europejskiego, uzupełnioną fragmentami sekwencji mtDNA komórek HeLa i bydła. Ponowne sekwencjonowanie oryginalnej próbki w 1999 roku umożliwiło odczytanie pełnej sekwencji mtDNA człowieka. Poprawiona sekwencja CRS (ang. revised Cambridge reference sequence, rCRS) jest obecnie powszechnie stosowana w badaniach nad mtDNA jako sekwencja referencyjna ludzkiego mtDNA.

Mitochondrialny DNA jest cennym narzędziem w badaniach z zakresu ewolucji, filogenetyki, genetyki populacyjnej i kryminalistyki. Wysoka zmienność mtDNA i jednorodzielski sposób dziedziczenia powoduje, że mtDNA stanowi molekularny zapis historii genealogicznej i migracji kobiet, które przekazywały mtDNA kolejnym pokoleniom. Możliwość klasyfikacji uzyskanych linii mtDNA, umieszczenia ich w konkretnym punkcie na osi czasu i na mapie geograficznej pozwoliło odpowiedzieć na wiele pytań związanych z formowaniem się

współczesnych społeczności. Szerokie badania populacyjne pozwoliły na ustalenie głównych kierunków przemieszczenia się ludzi na świecie i szacunkowego czasu zasiedlania kontynentów.

Chociaż zainteresowanie tym tematem jest duże, to poziom poznania mtDNA w różnych populacjach ludzkich jest ciągle bardzo ogólny. W szczególności brakuje informacji o zmienności genomu mitochondrialnego w populacjach z Polski. W związku z tym wybór tematu rozprawy doktorskiej należy uznać za trafny i merytorycznie uzasadniony.

Założenia i cele doktoratu zostały jasno i precyzyjnie sformułowane. Głównym celem badań Doktorantki było zbadanie zmienności rejonu kontrolnego oraz wpływu powojennej migracji ludności na zmienność genomu mitochondrialnego DNA. Do badań Doktorantka wybrała mieszkańców województwa zachodniopomorskiego. Wybór tej populacji do badań należy uznać za właściwy. Współczesna populacja Pomorza Zachodniego jest wyjątkowa ze względu na prawie całkowitą wymianę ludności niemieckiej na tym terenie po II wojnie światowej przez migrantów z różnych terenów Polski i Europy. Żeby to osiągnąć Doktorantka sekwencjonowała region kontrolny mitochondrialnego DNA wykorzystywany jako uniwersalne narzędzie do analiz populacyjnych, demograficznych i rekonstrukcji migracji populacji.

Wstęp rozprawy doktorskiej stanowi obszerną i wyczerpującą syntezę wiadomości dotyczących mitochondrialnego DNA, jego pochodzenia, dziedziczenia i zmienności. Na wyróżnienie zasługuje omówienie przez Doktorantkę funkcji humaniny, GAU (gene antisense ubiquitous) i MOTS – c (mitochondrial open – reading – frame of twelve S rRNA type – c) przeważnie pomijanych w pracach przeglądowych dotyczących mitochondrialnego DNA. Druga część wstępu dotyczy charakterystyki baz danych sekwencji mitochondrialnego DNA oraz ich zastosowania w filogenetyce, rekonstrukcjach demograficznych ludności, migracji i kryminalistyce. Wstęp doskonale wprowadza do danych prezentowanych w dalszej części pracy. Literatura jest dobrana prawidłowo, ponadto jest zróżnicowana i bogata. Na podkreślenie zasługuje umiejętność wykorzystywania najnowszej literatury przedmiotu i liczne odwołania do najnowszych badań światowych w podjętej tematyce.

Mocną stroną pracy jest metodyka. Doktorantka przeprowadziła zgodnie z protokołem EMPOP i szczegółowo opisała pochodzenie prób, sposoby izolacji oraz sekwencjonowania DNA. Bardzo szczegółowo zostały opisane również analizy genetyki populacji w których Doktorantka stosowała liczne programy do analizy otrzymanych danych: Arlequin, DnaSP, FactoMineR, HaploGrep i inne.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki zostały bardzo starannie udokumentowane i zaprezentowane na dobrej jakości rycinach. Są to dane nowatorskie, które zostały szeroko

omówione i wnikliwie przeanalizowane. W literaturze brakuje prac, które uwzględniałyby historię demograficzną kraju. Niniejsza praca jako pierwsza przedstawia wyniki analizy sekwencji całego regionu kontrolnego w Polsce. Doktorantka przeprowadziła badania na próbie składającej się z 300 osób i zidentyfikowała 262 różne haplotypy. W badaniach stwierdzono, że najliczniejszą była makrohaplogrupa H (25,8%), a następnie U zidentyfikowana w 19,7% próbek. Kolejno w badanej populacji zidentyfikowano makrohaplogrupy T (11,7%), HV (10%), J (9,4%), R0 (8%) oraz K (4%). Łącznie stanowią one 88,6% całej przebadanej populacji województwa zachodniopomorskiego. Doktorantka przeprowadziła szczegółową analizę parametrów różnicowania genetycznego (liczba miejsc zmiennych, różnicowanie nukleotydowe, liczba haplotypów, różnicowanie haplotypowe).

Następnym etapem badań Doktorantki było porównanie uzyskanych wyników z innymi populacjami Polski i Europy. W regionie kontrolnym mtDNA 17 europejskich populacji obejmujących 3242 próbki zidentyfikowano 466 miejsc polimorficznych i 1980 haplotypów. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania zwiększają naszą znajomość różnicowania genetycznego mitochondrialnego DNA populacji Europy o prawie 10%. Porównanie wartości różnicowania haplotypowego i nukleotydowego wykazało, że populacja zachodniopomorska jest jedną z najbardziej zróżnicowanych w porównaniu do europejskich i innych polskich populacji. Tylko 39% haplotypów było wspólnych z innymi populacjami europejskimi, co świadczy o genetycznej odrębności mtDNA mieszkańców tej populacji. Ujemne wartości testów neutralności, wskazujące na liczne migracje z Polski i Europy, potwierdziły burzliwą historię demograficzną województwa zachodniopomorskiego po II wojnie światowej.

Niniejsza praca jako pierwsza przedstawia analizy sekwencji całego regionu kontrolnego w Polsce. Ponadto po raz pierwszy tak szczegółowo opisano w oparciu o mtDNA populację o tak skomplikowanej historii demograficznej i porównano ją względem innych populacji europejskich. Zdeponowanie uzyskanych w niniejszej dysertacji sekwencji w bazie EMPOP istotnie zwiększa poziom poznania zarówno polskich jak i europejskich populacji.

Podsumowując uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr. Barbary Wąsowicz, stanowi oryginalne dzieło naukowe, a uzyskane wyniki są dobrze uzasadnione rezultatami badań. Uważam, że rezultaty te są wiarygodne i oryginalne, w znaczący sposób stanowiące novum naukowe. Doktorantka wykazała zarówno wystarczające kompetencje w stosowaniu nowoczesnych narzędzi analizy danych genetycznych jak i profesjonalizm w znajomości genetyki, mitochondrialnego DNA oraz genetyki populacyjnej. Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska mgr Barbary Wąsowicz „Polimorfizm regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA mieszkańców województwa zachodniopomorskiego w kontekście powojennej historii

regionu“ spełnia warunki określone w art 13 ust 1 stawiane rozprawom doktorskim ustawy z dnia 14 marca 2013 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresie sztuki niniejszym wnoszę o dopuszczenie mgr Barbary Wąsowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę, że w pracy tej po raz pierwszy przeprowadzono analizy sekwencji całego regionu kontrolnego w Polsce zgodnie z wymaganiami bazy EMPOP rekomenduję Radzie Naukowej wyróżnienie tej pracy.





MUZEUM I INSTYTUT ZOOLOGII, POLSKA AKADEMIA NAUK
ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa
Tel.: (48 22) 629 32 21, Tel./Fax: (48 22) 629 63 02, e-mail:
sekretariat@miiz.waw.pl

Warszawa, dnia 18.03.2024

Prof. dr hab. Tadeusz Malewski

Pracownia Technik Molekularnych i Biometrycznych

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Barbary Wąsowicz pt. „Polimorfizm regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA mieszkańców województwa zachodniopomorskiego w kontekście powojennej historii regionu“

Mitochondria są, poza jądrem komórkowym, jedynymi organellami w komórkach zwierzęcych, które posiadają własny genom. Obecność materiału genetycznego w mitochondriach odkryto w latach 60. XX wieku. Dalsze badania doprowadziły do poznania całkowitej sekwencji ludzkiego mitochondrialnego DNA, którą opublikowano w 1981 roku. Obecnie określana jako Cambridge reference sequence (CRS), jest ona sekwencją mtDNA z łożyska pojedynczej osoby pochodzenia europejskiego, uzupełnioną fragmentami sekwencji mtDNA komórek HeLa i bydła. Ponowne sekwencjonowanie oryginalnej próbki w 1999 roku umożliwiło odczytanie pełnej sekwencji mtDNA człowieka. Poprawiona sekwencja CRS (ang. revised Cambridge reference sequence, rCRS) jest obecnie powszechnie stosowana w badaniach nad mtDNA jako sekwencja referencyjna ludzkiego mtDNA.

Mitochondrialny DNA jest cennym narzędziem w badaniach z zakresu ewolucji, filogenetyki, genetyki populacyjnej i kryminalistyki. Wysoka zmienność mtDNA i jednorodzielski sposób dziedziczenia powoduje, że mtDNA stanowi molekularny zapis historii genealogicznej i migracji kobiet, które przekazywały mtDNA kolejnym pokoleniom. Możliwość klasyfikacji uzyskanych linii mtDNA, umieszczania ich w konkretnym punkcie na osi czasu i na mapie geograficznej pozwoliło odpowiedzieć na wiele pytań związanych z formowaniem się

współczesnych społeczności. Szerokie badania populacyjne pozwoliły na ustalenie głównych kierunków przemieszczenia się ludzi na świecie i szacunkowego czasu zasiedlania kontynentów.

Chociaż zainteresowanie tym tematem jest duże, to poziom poznania mtDNA w różnych populacjach ludzkich jest ciągle bardzo ogólny. W szczególności brakuje informacji o zmienności genomu mitochondrialnego w populacjach z Polski. W związku z tym wybór tematu rozprawy doktorskiej należy uznać za trafny i merytorycznie uzasadniony.

Założenia i cele doktoratu zostały jasno i precyzyjnie sformułowane. Głównym celem badań Doktorantki było zbadanie zmienności rejonu kontrolnego oraz wpływu powojennej migracji ludności na zmienność genomu mitochondrialnego DNA. Do badań Doktorantka wybrała mieszkańców województwa zachodniopomorskiego. Wybór tej populacji do badań należy uznać za właściwy. Współczesna populacja Pomorza Zachodniego jest wyjątkowa ze względu na prawie całkowitą wymianę ludności niemieckiej na tym terenie po II wojnie światowej przez migrantów z różnych terenów Polski i Europy. Żeby to osiągnąć Doktorantka sekwencjonowała region kontrolny mitochondrialnego DNA wykorzystywany jako uniwersalne narzędzie do analiz populacyjnych, demograficznych i rekonstrukcji migracji populacji.

Wstęp rozprawy doktorskiej stanowi obszerną i wyczerpującą syntezę wiadomości dotyczących mitochondrialnego DNA, jego pochodzenia, dziedziczenia i zmienności. Na wyróżnienie zasługuje omówienie przez Doktorantkę funkcji humaniny, GAU (gene antisense ubiquitous) i MOTS – c (mitochondrial open – reading – frame of twelve S rRNA type – c) przeważnie pomijanych w pracach przeglądowych dotyczących mitochondrialnego DNA. Druga część wstępu dotyczy charakterystyki baz danych sekwencji mitochondrialnego DNA oraz ich zastosowania w filogenetyce, rekonstrukcjach demograficznych ludności, migracji i kryminalistyce. Wstęp doskonale wprowadza do danych prezentowanych w dalszej części pracy. Literatura jest dobrana prawidłowo, ponadto jest zróżnicowana i bogata. Na podkreślenie zasługuje umiejętność wykorzystywania najnowszej literatury przedmiotu i liczne odwołania do najnowszych badań światowych w podjętej tematyce.

Mocną stroną pracy jest metodyka. Doktorantka przeprowadziła zgodnie z protokołem EMPOP i szczegółowo opisała pochodzenie prób, sposoby izolacji oraz sekwencjonowania DNA. Bardzo szczegółowo zostały opisane również analizy genetyki populacji w których Doktorantka stosowała liczne programy do analizy otrzymanych danych: Arlequin, DnaSP, FactoMineR, HaploGrep i inne.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki zostały bardzo starannie udokumentowane i zaprezentowane na dobrej jakości rycinach. Są to dane nowatorskie, które zostały szeroko

omówione i wnikliwie przeanalizowane. W literaturze brakuje prac, które uwzględniałyby historię demograficzną kraju. Niniejsza praca jako pierwsza przedstawia wyniki analizy sekwencji całego regionu kontrolnego w Polsce. Doktorantka przeprowadziła badania na próbie składającej się z 300 osób i zidentyfikowała 262 różne haplotypy. W badaniach stwierdzono, że najliczniejszą była makrohaplogrupa H (25,8%), a następnie U zidentyfikowana w 19,7% próbek. Kolejno w badanej populacji zidentyfikowano makrohaplogrupy T (11,7%), HV (10%), J (9,4%), R0 (8%) oraz K (4%). Łącznie stanowią one 88,6% całej przebadanej populacji województwa zachodniopomorskiego. Doktorantka przeprowadziła szczegółową analizę parametrów różnicowania genetycznego (liczba miejsc zmiennych, różnicowanie nukleotydowe, liczba haplotypów, różnicowanie haplotypowe).

Następnym etapem badań Doktorantki było porównanie uzyskanych wyników z innymi populacjami Polski i Europy. W regionie kontrolnym mtDNA 17 europejskich populacji obejmujących 3242 próbki zidentyfikowano 466 miejsc polimorficznych i 1980 haplotypów. Przeprowadzone przez Doktorantkę badania zwiększają naszą znajomość różnicowania genetycznego mitochondrialnego DNA populacji Europy o prawie 10%. Porównanie wartości różnicowania haplotypowego i nukleotydowego wykazało, że populacja zachodniopomorska jest jedną z najbardziej różnicowanych w porównaniu do europejskich i innych polskich populacji. Tylko 39% haplotypów było wspólnych z innymi populacjami europejskimi, co świadczy o genetycznej odrębności mtDNA mieszkańców tej populacji. Ujemne wartości testów neutralności, wskazujące na liczne migracje z Polski i Europy, potwierdziły burzliwą historię demograficzną województwa zachodniopomorskiego po II wojnie światowej.

Niniejsza praca jako pierwsza przedstawia analizy sekwencji całego regionu kontrolnego w Polsce. Ponadto po raz pierwszy tak szczegółowo opisano w oparciu o mtDNA populację o tak skomplikowanej historii demograficznej i porównano ją względem innych populacji europejskich. Zdeponowanie uzyskanych w niniejszej dysertacji sekwencji w bazie EMPOP istotnie zwiększa poziom poznania zarówno polskich jak i europejskich populacji.

Podsumowując uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr. Barbary Wąsowicz, stanowi oryginalne dzieło naukowe, a uzyskane wyniki są dobrze uzasadnione rezultatami badań. Uważam, że rezultaty te są wiarygodne i oryginalne, w znaczący sposób stanowiące novum naukowe. Doktorantka wykazała zarówno wystarczające kompetencje w stosowaniu nowoczesnych narzędzi analizy danych genetycznych jak i profesjonalizm w znajomości genetyki, mitochondrialnego DNA oraz genetyki populacyjnej. Stwierdzam zatem, że rozprawa doktorska mgr Barbary Wąsowicz „Polimorfizm regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA mieszkańców województwa zachodniopomorskiego w kontekście powojennej historii

regionu“ spełnia warunki określone w art 13 ust 1 stawiane rozprawom doktorskim ustawy z dnia 14 marca 2013 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresie sztuki niniejszym wnoszę o dopuszczenie mgr Barbary Wąsowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę, że w pracy tej po raz pierwszy przeprowadzono analizy sekwencji całego regionu kontrolnego w Polsce zgodnie z wymaganiami bazy EMPOP rekomenduję Radzie Naukowej wyróżnienie tej pracy.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "M. Wąsowicz", is positioned on the right side of the page.