

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Dominiki Błoniarz  
pt.: „Plejotropowe efekty braku funkcjonalnego genu *TRDMT1* w komórkach nowotworowych podczas hodowli długoterminowej oraz starzenia indukowanego chemioterapeutykami”, w związku z powierzeniem obowiązku recenzenta przez Radę Naukową Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego

Rozprawa doktorska mgr inż. Dominiki Błoniarz powstała w Katedrze Biotechnologii Instytutu Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Rzeszowskiego pod kierunkiem dr hab. Anny Lewińskiej, prof. Uniwersytetu Rzeszowskiego oraz dr inż. Jagody Adamczyk-Grochali – promotor pomocniczej. Rozprawa została przygotowana w formie monografii. Część wyników uzyskanych podczas realizacji rozprawy doktorskiej została opublikowana: Błoniarz D, Adamczyk-Grochala J, Lewinska A, Wnuk M. *The lack of functional DNMT2/TRDMT1 gene modulates cancer cell responses during drug-induced senescence*. Aging (Albany NY). 2021 Jun 17;13(12):15833-15874, 140 pkt., if 5,955. Rozprawa doktorska była finansowana w ramach projektu NCN „Rola metylotransferazy DNMT2 w regulacji plastyczności genomowej komórek nowotworowych” (OPUS 13 grant UMO-2017/25/B/NZ2/01983, 2018-2021), którego kierownikiem był dr hab. Maciej Wnuk, prof. UR.

Problematyka rozprawy doktorskiej jest mi dobrze znana, ponieważ od lat śledzę procesy nowotworzenia oraz udział zmian epigenetycznych – metylacji w regulacji funkcjonowania komórek w układach *in vitro*.

Rozprawę rozpoczyna **Spis treści**. Następnie Autorka zamieściła **Wykaz wybranych skrótów** jak również **Streszczenie** w języku polskim i angielskim, na łącznie 14 stronach.

We **Wstępie** obejmującym 22 stron Doktorantka wprowadza w zagadnienia związane z realizacją rozprawy doktorskiej poczynając od charakterystyki metylotransferaz RNA (*TRDMT1*), poprzez przedstawienie metylacji RNA, metylotransferaz m<sup>5</sup>C RNA metylujących tRNA, rRNA mitochondrialne RNA. Przechodzi następnie do mechanizmu metylacji węgla w pozycji 5 cytozyny w RNA przez eukariotyczne metylotransferazy m<sup>5</sup>C RNA, charakteryzuje metylotransferazy *TRDMT1* i przedstawia ich znaczenie. W ostatniej części Doktorantka wprowadza w zagadnienia wiążące starzenie komórek ze zmianami w epitranskryptomie oraz zastosowanie chemioterapeutyków i wpływie na starzenie komórek nowotworowych. Ta część rozprawy jest bogato ilustrowana, co ułatwia zrozumienie przedstawianych treści.

**Cel i założenia pracy** przedstawiono na jednej stronie. Doktorantka założyła, że brak funkcjonalnego genu metylotransferazy m<sup>5</sup>C RNA - *TRDMT1* prowadzi do deregulacji transkryptomu, sprzyjając wtórnym zmianom na poziomie chromosomów w komórkach

nowotworowych. Dochodzi również do zaburzenia odpowiedzi adaptacyjnej komórek nowotworowych na stres wywołany chemioterapeutykami. Doktorantka wskazała cztery cele szczegółowe obejmujące: 1) określenie znaczenia braku funkcjonalnego genu *TRDMT1* w komórkach wybranych nowotworów w powstawaniu wtórnych aberracji chromosomowych; 2) charakterystykę efektów stosowania inhibitorów metylotransferaz DNA/RNA oraz innych chemioterapeutyków w komórkach bez funkcjonalnego genu *TRDMT1*; 3) poznanie funkcji białka TRDMT1 w przebiegu starzenia indukowanego chemioterapią oraz 4) ocenę TRDMT1 jako potencjalnego celu molekularnego w terapii senolitycznej komórek nowotworowych. Założone cele uważam za bardzo ambitne i trudne do realizacji ze względu na olbrzymi zakres podjętych prac.

Rozdział **Materiały i metody** został przedstawiony na 30 stronach. Doktorantka szczegółowo wymienia stosowane odczynniki, przeciwciała, leki, komercyjnie dostępne zestawy, bufony i roztwory oraz sprzęt jednorazowego użycia. Dużą część rozdziału poświęciła metodom odnosząc się do hodowli komórkowych w układach *in vitro*, analizy poziomu białek – techniką western blot przechodzi następnie do analizy żywotności komórek, oceny proliferacji komórek i indukcji apoptozy komórek. Przedstawia analizy cyklu komórkowego, pomiar poziomu anionorodnika ponadtlenkowego, analizy uszkodzeń DNA, badanie poziomu ekspresji genów, etapy izolacji DNA, po czym przechodzi do oceny ilościowej długości telomerów, analizy telomerowych powtórzeń RNA, TERRA i analizy aktywności telomerazy. Następnie przedstawia pomiary aktywności metylotransferaz, poziomu metylacji RNA metodą ELISA, ocenę interakcji białka TRDMT1 z TERT, metodę porównawczej hybrydyzacji genomowej do mikromacierzy (aCGH). Końcowa część przeznaczona została na oznaczenie aktywności SA- $\beta$ -galaktozydazy związanej ze starzeniem, obrazowanie fluorescencyjne markera autofagii p62 i markera lizosomalnego Lamp1, immunofluorescencyjną detekcję białek aż do analizy statystycznej i układów eksperymentalnych. Ten rozdział przygotowano bardzo profesjonalnie.

Rozdział **Wyniki** Autorka przedstawiła na 72 stronach, obejmujących także liczne ryciny. Doktorantka odnosi się do celów szczegółowych. Do analizy wykorzystano komercyjnie dostępne linie komórkowe gruczolakoraka szyjki macicy HeLa, gruczolakoraka piersi MDA-MB-231, kostniakomięsaka U-2 OS i glejaka U-251 MG reprezentujące różne typy nowotworów w celu poszukiwania uniwersalnych/wspólnych efektów braku białka, które poddano wyłączeniu genu *TRDMT1*, uzyskując stabilne linie komórkowe. Doktorantka potwierdziła następnie brak funkcjonalnego genu *TRDMT1* w badanych liniach komórkowych *in vitro* w odniesieniu do komórek kontrolnych. Nie zaobserwowała istotnych statystycznie

różnic w żywotności komórek, potencjale proliferacyjnym i apoptozie, występowało natomiast zaburzenie faz cyklu komórkowego. Różnice dotyczyły również odpowiedzi na inhibitory metylotransferaz DNA/RNA - azacytydynę, sinefunginę i zebularynę w odniesieniu do żywotności, potencjału proliferacyjnego, odsetka subpopulacji komórek w poszczególnych fazach cyklu i oraz apoptozy. Do dalszych badań Doktorantka wykorzystała 5  $\mu$ M stężenie azacytydyny. Po dwudniowej hodowli *in vitro* z azacytydyną zaobserwowano wzrost odsetka subpopulacji komórek w fazie G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> ( $p < 0,001$ ) dla linii MDA-MB-231, U-2 OS i U-251 MG pozbawionych białka TRDMT1, natomiast po 30-dniowej hodowli z inhibitorem wzrost liczby komórek w fazie G<sub>2</sub>/M ( $p < 0,001$ ) zaobserwowano dla linii HeLa, MDA-MB-231, U-2 OS i U-251 MG z wyłączonym genem *TRDMT1*.

Wyniki te potwierdziły badania ekspresji genów zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego, po 30-dniowym traktowaniu 5  $\mu$ M azacytydyną, wszystkie badane linie nowotworowe z wyłączonym genem *TRDMT1* wykazały obniżoną ekspresję genu *CCNA2*. Ponadto dla linii komórkowych MDA-MB-231 i U-251 MG wystąpiło obniżenie ekspresji genu *CCNA1*. Dla linii MDA-MB-231, U-2 OS i U-251 MG doszło do obniżenia ekspresji genów *CDC2*, *CCNH*, *CDK7* i *TGFB3*, *HDAC4*, *ATM*, *ATR*, *RBI*, *CDKN2C*, *CDKN1B*, *CDK2*, *E2F1*, *CCND3*, *E2F3*, *TP53*, *E2F2*, *HDAC3*, *CCNB2* i *CDKN2D*. Dla linii HeLa z kolei zaobserwowano wzrost ekspresji genu *TGFB3*. Dla linii MDA-MB-231 i U-2 OS wystąpiło obniżenie ekspresji genów *GSK3B*, *PPP2CA*, *HDAC3*, *TGFB1*, *TGFB2*, *HDAC6*, *HDAC7*, *HDAC1*, *HDAC9*, *CCNE1*, *CCNE2*, *CCNB2*, *CCND1*, obniża także transkrypcję genów *CDC2*, *CDK4*, *RBI*, *TGFB1*, *ATM*, *CCNH*, *HDAC3*, *PPP2CA*, *CCND3*, *CCNA2*, *CCNE2*, *E2F3*, *CDK2*, *CDKN2C*, *HDAC1*, *ATR*, *HDAC7*, *RAF1*, *E2F1*, *CDK6*, *CDKN2D*, *HDAC6* i *TP53*. Dla linii U-251 MG Doktorantka zaobserwowała wzrost ekspresji genów *CCND1* i *CDK6* podczas gdy dla linii HeLa, MDA-MB-231 i U-2 OS wystąpiło obniżenie ekspresji genu *CDK6*. Co ciekawe Doktorantka wykazała obniżenie ekspresji *CDKN1A* dla modyfikowanych i kontrolnych linii HeLa i U-2 OS po działaniu azacytydyną.

Doktorantka zaobserwowała również zmiany na poziomie transkrypcji genów kontrolujących apoptozę oraz *c-Myc* w obecności azacytydyny dla linii komórkowych pozbawionych białka TRDMT1. Długotrwałe działanie inhibitora związane było z istotnym wzrostem liczby komórek apoptotycznych w porównaniu z traktowaniem krótkoterminowym. Doktorantka zaobserwowała dla linii komórkowych MDA-MB-231 i U-2 OS wzrost liczby komórek późnoapoptotycznych w porównaniu z komórkami kontrolnymi. W liniach komórkowych HeLa i MDA-MB-231 zaobserwowano wzrost ekspresji genów *CYCS*, *BID*,

*KRAS* i *YWHAZ*, *Myc*, wzrost ekspresji genu *FAS*. Dla linii U-2 OS i U-251 MG wykazano obniżenie ekspresji genów *CYCS*, *BID*, *KRAS*, *YWHAZ*, *YWHAH* i *YWHAQ* oraz podwyższenie ekspresji genu *APAF1* w porównaniu z kontrolą. W liniach MDA-MB-231, U-2 OS i U-251 MG wystąpiło obniżenie ekspresji genów *YWHAH*, *CASP8*, *YWHAH* i *CASP3*. Dla linii U-251 MG obniżenie ekspresji genu *FAS*, wzrost ekspresji genu *Myc*. Dla linii HeLa, U-2 OS i U-251 MG Doktorantka zaobserwowała zmniejszenie ekspresji genu *BAX*. Dla linii HeLa i U-251 MG obniżenie ekspresji genu *IGF1R*. Dla linii MDA-MB-231 wzrost ekspresji genu *IGF1R*. Dla linii HeLa wykazano wzrost ekspresji genów *YWHAH* i *YWHAQ* i obniżenie (nieznaczne) ekspresji genu *APAF1*.

Doktorantka wykazała, że wyłączenie genu *TRDMT1* w komórkach nowotworowych obniża poziom  $m^5C$  w RNA, przy czym najsilniejszy efekt był obserwowany w komórkach HeLa i U-2 OS, a najslabszy w MDA-MB-231. Azacytydyna obniżała poziom metylowanej cytozyny w RNA wszystkich linii komórkowych, niezależnie od obecności czy braku aktywnego białka TRDMT1, natomiast różnice dotyczy zawartości  $m^5C$  w RNA, przy czym po 30 dniach nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic między liniami z wyłączonym genem a liniami z aktywnym genem *TRDMT1*.

Doktorantka zaobserwowała obniżenie aktywności metylotransferaz RNA w cytozolu we wszystkich komórkach z wyłączonym genem *TRDMT1*. Inkubacja z azacytydyną była związana z kolei ze wzrostem aktywacji metylotransferaz (MTs) dla modyfikowanych linii HeLa i U-2 OS. Długotrwała hodowla z azacytydyną związana była głównie z obniżeniem aktywności metylotransferaz w porównaniu z traktowaniem 2-dniowym dla wszystkich typów komórek.

Doktorantka wykazała występowanie zmian w długości telomerów oraz modulację transkrypcji genów odpowiedzialnych za utrzymanie integralności telomerów w liniach pozbawionych białka TRDMT1. Linie HeLa wykazywały istotne skrócenie długości telomerów, podczas gdy dla linii U-2 OS i MDA-MB-231 dochodziło do ich wydłużania. W komórkach linii HeLa i U-251 MG traktowanych azacytydyną wystąpiło obniżenie ekspresji genów jak *HNRNPA1*, *HNRNPD*, *HNRNPA2B*, *TERF2IP* i *XRCC5*. W liniach HeLa, MDA-MB-231 i U-251 MG wystąpiło obniżenie ekspresji genu *POT1*. Dla linii MDA-MB-231 i U-2 OS zaobserwowano obniżenie ekspresji genów *XRCC6* i *MRE11A* i podwyższenie ekspresji genów *HNRNPA2B1* i *TERF2IP*. Doktorantka wykazała ponadto zróżnicowanie poziomu ekspresji genów kodujących białka kompleksu szelteryнового *TERF1*, *TERF2*, a także genów *TNKS* i *TNKS2*.

Doktorantka określała ponadto występowanie zmian w poziomie białek kompleksu szelteryнового oraz TERT w liniach komórkowych HeLa i U-251 MG pozbawionych białka TRDMT1 po długotrwałej hodowli z azacytydyną. Wykazała istotne statystycznie obniżenie poziomu białka TERT ( $p < 0,001$ ) i wzrost poziomu białek szelteryновых RAP1 ( $p < 0,001$ ), TRF1 ( $p < 0,001$ ) i TRF2 ( $p < 0,001$ ) w linii komórkowej U-251 MG, a w przypadku linii HeLa istotne statystycznie zmiany dotyczyły białka TRF2 ( $p < 0,001$ ).

Doktorantka przeprowadziła analizę ekspresji sekwencji *TERRA* (ang. *telomeric repeat containing RNA*) dla regionów chromosomowych: 4ptel, 7ptel, 12ptel, 1qtel, 4qtel, 6qtel, 10qtel, 17qtel, 21qtel, 22qtel, XqYq, wykazując wyższy poziom ekspresji *TERRA* w liniach z wyłączonym genem *TRDMT1* w porównaniu z liniami z funkcjonalnym genem *TRDMT1*. Azacytydyna prowadzi do zwiększenia poziomu tych powtórzeń dla obu typów linii HeLa, z kolei w liniach U-2 OS i U-251 MG bez aktywnego genu *TRDMT1* dochodzi do obniżenia poziomu *TERRA*. Brak aktywnego genu *TRDMT1* obniża aktywność telomerazy prowadzi do istotnie statystycznego obniżenia aktywności telomerazy dla linii HeLa ( $p < 0,001$ ) oraz U-251 MG ( $p < 0,05$ ). Doktorantka wykazała, że białko TRDMT1 bezpośrednio oddziałuje z telomerazą w komórkach linii HeLa, MDA-MB-231 i U-251 MG głównie we frakcji cytoplazmatycznej, ale również w jądrze komórkowym.

Porównawcza hybrydyzacja genomowa do mikromacierzy (aCGH, ang. *array-comparative genomic hybridization*) pozwoliła wskazać, że wyłączenie genu *TRDMT1* prowadzi do utraty heterozygotyczności (LOH) we wszystkich liniach nowotworowych. Doktorantka wylicza dokładnie zaobserwowane delecje zarówno dla linii z wyłączonym genem jak i linii z aktywnym genem dla linii komórkowych, przy czym zmiany te nie pokrywały się, a w przypadku linii kontrolnej nie miały charakteru patogenicznego.

Doktorantka określała znaczenie braku funkcjonalnego genu *TRDMT1* podczas indukcji procesu starzenia przez indukowanego lekami przeciwnowotworowymi – doksorubicyną i etopozydem. Doksorubicyna oraz etopozyd prowadziły do zatrzymania komórek w fazie G2/M we wszystkich badanych liniach komórkowych.

Linie HeLa bez genu *TRDMT1* pod wpływem etopozydu oraz etopozydu i kolejno azacytydyny zatrzymują się częściej w fazie G0/G1 w porównaniu z komórkami kontrolnymi ( $p < 0,001$ ), podobnie jak linie U-251 MG po traktowaniu etopozydem i kolejno azacytydyną w porównaniu z traktowaniem samym etopozydem ( $p < 0,001$ ). Z kolei zastosowanie azacytydyny po doksorubicynie umożliwiło zatrzymanie komórek linii U-251 MG z aktywnym genem *TRDMT1* w fazie G0/G1 ( $p < 0,01$ ). Doktorantka analizowała następnie markery śmierci komórkowej po traktowaniu doksorubicyną, etopozydem oraz azacytydyną wykazując

modulację wrażliwości na apoptozę linii komórkowych bez funkcjonalnego genu *TRDMT1*, w niektórych układach wykazując ograniczenie liczby komórek apoptotycznych. Podobne zróżnicowanie równowagi redoks zaobserwowano dla komórek nowotworowych traktowanych niecytotoksycznymi dawkami doksorubicyny i etopozydu.

Doktorantka wykazała ponadto, że brak aktywnego genu *TRDMT1* ogranicza indukowane lekiem starzenie za pośrednictwem p21 w komórkach glejaka, obniżona jest również aktywność beta-galaktozydazy (SA- $\beta$ -gal), natomiast doksorubicyna oraz etopozyd promowały aktywność beta-galaktozydazy i wzrost poziomu jądrowego białka p21 we wszystkich liniach komórek nowotworowych, niezależnie od obecności białka TRDMT1 ( $p < 0,001$ ).

Zaobserwowała działanie senolityczne azacytydyny w liniach komórkowych HeLa i U-2 OS z wyłączonym genem *TRDMT1*, co ciekawe w komórkach HeLa apoptoza wystąpiła po uprzednim działaniu doksorubicyną lub etopozydem, a w przypadku komórek U-2 OS po uprzednim działaniu komórek etopozydem zaobserwowano nieapoptotyczną śmierć nekrotyczną.

Doktorantka bardzo dokładnie przeanalizowała wpływ braku białka TRDMT1 na stabilność genetyczną starzejących się komórek nowotworowych. Doksorubicyna oraz etopozyd prowadziły do powstawania pęknięć podwójnej nici DNA we wszystkich badanych liniach komórkowych z wyjątkiem linii U-2 OS traktowanej doksorubicyną. Brak funkcjonalnego genu *TRDMT1* w zależności od stosowanego układu badawczego (doksorubicyna, etopozyd, azacytydyna) prowadzić mógł do ograniczenia lub nasilenia pęknięć podwójnej nici DNA. Ponadto Doktorantka zaobserwowała aktywację ATM i H2AX (podwyższone ufosforylowane formy ATM i H2AX) we wszystkich badanych liniach komórkowych po działaniu doksorubicyną i etopozydem. Z kolei działanie na komórki bez białka TRDMT1 doksorubicyną, etopozydem oraz azacytydyną po uprzedniej inkubacji z doksorubicyną lub etopozydem bardzo często prowadziło do obniżenia poziomu fosforylacji białek ATM i H2AX. Przeprowadzone analizy dla czterech linii komórek nowotworowych wykazały również, że doksorubicyna oraz etopozyd mogą promować formowanie struktur mikrojąder, a brak funkcjonalnego genu *TRDMT1* nie nasilał tego efektu, natomiast często obserwowano ograniczenie powstawania mikrojąder. Największy wpływ braku aktywnego genu *TRDMT1* na obniżenie liczby mikrojąder zaobserwowano dla linii U-251 MG.

Stosowanie doksorubicyny i etopozydu prowadziło ponadto do wzrostu liczby ognisk hybryd RNA-DNA we wszystkich badanych liniach komórkowych, natomiast różne

kombinacje z azacytydyną związane są zarówno ze wzrostem jak i obniżaniem powstawania hybryd RNA-DNA w liniach z wyłączonym jak i aktywnym genem *TRDMT1*.

Dokсорubicyna prowadziła do wzrostu tworzenia ognisk 53BP1 dla wszystkich badanych linii nowotworowych, efekt ten dla etopozydu zaobserwowano tylko w liniach MDA-MB-231 i U-2 OS. Z kolei bardziej złożone układy związane były ze wzrostem lub obniżeniem powstawania ognisk 53BP1 w liniach bez aktywnego genu *TRDMT1*.

Dokсорantka przeprowadziła również badania w odniesieniu do poziomu białka RAD51, RAD52 i XRCC1. Ta część badań jest bardzo obszerna i wymagała bardzo dużej dokładności prowadzenia badań ze strony Doktorantki, a wnioskowanie ze względu na stosowanie zróżnicowanych układów inhibitorów jest zadaniem trudnym.

W kolejnej części Doktorantka określała poziom ekspresji Ago2 podczas starzenia indukowanego dokсорubicyną lub etopozydem i efekt wyłączenia genu *TRDMT1*. Dokсорubicyna i etopozyd prowadziły w większości przypadków do wzrostu poziomu Ago2 a azacytydyna zmniejszała poziom białka Ago2 niezależnie od obecności czy braku białka TRDMT1.

Wykazała również, że dokсорubicyna oraz etopozyd mogą modyfikować proces autofagii, co określała poprzez analizę poziomu frakcji cytozolowej LC3B oraz poziomu p62. Brak białka TRDMT1 w różnych układach sprzyjał obniżeniu poziomu LC3B, natomiast dla p62 każda linia komórkowa reagowała odmiennie. Doktorantka analizowała ponadto zmiany na poziomie lizosomów oraz komórek wielojądrzastych.

Dokсорantka wykazała zmiany w fenotypie sekrecyjnym komórek nowotworowych z wyłączonym genem *TRDMT1* w obecności chemioterapeutyków poprzez ocenę poziomu jądrowego NF- $\kappa$ B oraz cytokin prozapalnych IL-1 $\beta$ , IL-6 i IL-8. Zaobserwowała również występowanie zmian w poziomie innych metylotransferaz 5-mC RNA - białek z rodziny NOL1/NOP2/SUN (NSUN). W ostatniej części wykazała wzrost poziomu 5-mC podczas starzenia aktywowanego chemioterapią w liniach komórkowych z wyłączonym genem *TRDMT1* dla większości linii.

Wyniki są bogato ilustrowane, każdy rozdział jest zakończony ryciną z odpowiednimi wykresami, co ułatwia zrozumienie przedstawianych przez Doktorantkę danych. Materiał zawarty w tej części jest bardzo obszerny i trudny do przedstawienia, natomiast Doktorantce udało się tego dokonać w sposób absorbujący czytelnika. Rozdział ten oceniam bardzo wysoko.

**Dyskusja** została przedstawiona na 30 stronach, a Doktorantka odnosi swoje wyniki do dostępnych danych. Rozdział ten został zakończony ryciną podsumowującą uzyskane wyniki. Tą część rozprawy jest w pełni satysfakcjonująca.

Doktorantka sformułowała cztery **wnioski** dotyczące zmian na poziomie genomu w komórkach nowotworowych w przypadku zaburzenia funkcji genu *TRDMT1*, następnie zmian długości telomerów przekładających się na utratę heterozygotyczności i wzrost zmienności genetycznej i fenotypowej komórek. Kolejny wniosek dotyczy modyfikacji procesu starzenia komórek nowotworowych w obecności wybranych inhibitorów. Doktorantka wykazała również właściwości senolityczne azacytydyny w liniach HeLa i U-2 OS. Wnioski są przedstawione w sposób zwarty, ale satysfakcjonujący recenzenta.

Autorka zacytowała w swojej rozprawie 346 artykułów, zebranych w rozdziale **Piśmiennictwo**. Ta część jest bardzo obszerna, może trochę przesadzona, ale należy podziwiać, że Autorka zdołała zapoznać się ze wszystkimi artykułami. Doktorantka kończy rozprawę podaniem faktów ze swojego życiorysu.

W swojej recenzji nie skupiłem się na drobnych niedociągnięciach, ponieważ wartości merytoryczne przewyższają niewielkie usterki.

**Wniosek końcowy.** Zwracam się do Rady Naukowej Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne mgr inż. Dominice Błoniarz. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

Ze względu na opracowanie bardzo szerokiej problematyki związanej z wpływem braku funkcjonalnego genu *TRDMT1* na długoterminową hodowlę wybranych linii komórek nowotworowych i procesy starzenia indukowanego chemioterapeutykami oraz zastosowanie nowoczesnych metod badawczych zgłaszam **wniosek o wyróżnienie rozprawy**. Wyróżnienie uzasadniam uzyskaniem bardzo wartościowych wyników przy zastosowaniu pogłębionych analiz, o czym świadczy opublikowanie części wyników powstałych w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej, przy czym Doktorantka jest pierwszą autorką pracy: **Błoniarz D**, Adamczyk-Grochala J, Lewinska A, Wnuk M. *The lack of functional DNMT2/TRDMT1 gene modulates cancer cell responses during drug-induced senescence*. Aging (Albany NY). 2021 Jun 17;13(12):15833-15874, 140 pkt., if 5,955.

Poznań, 10.05.2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Ryszard Słomski