

Kraków, 30.07.2022



## OCENA

**Pracy doktorskiej pani mgr Anny Balcerak,  
doktorantki Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie,  
Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie**

### Tytuł pracy:

**"Próba oszacowania molekularnej funkcji transkryptów oraz nowo  
odkrytego mikropeptydu kodowanego przez gen CRNDE  
oraz ich wpływu na wybrane aspekty procesu nowotworzenia"**

Wydział Biochemii,  
Biofizyki i Biotechnologii  
Zakład Biotechnologii  
Medycznej

Jednym z najważniejszych kierunków badań we współczesnej biologii, opartych w dużej mierze na rozwoju technologii sekwencjonowania RNA, jest poznawanie niekodujących transkryptów, w tym długich niekodujących RNA (lncRNA). Wiadomo, że lncRNA występują w komórkach powszechnie i odgrywają istotną rolę w regulacji wielu procesów, przy czym działają plejotropowo. Mogą wpływać na strukturę chromatyny, dojrzewanie, stabilność i translację RNA oraz aktywność białek. Są również ważnymi regulatorami działania miRNA. Mimo ogromnego zainteresowania jakie budzą lncRNA wciąż zaskakująco niewiele wiadomo o rzeczywistych funkcjach biologicznych poszczególnych transkryptów, a badania napotykają wiele trudności metodycznych. Techniki biochemiczne i genetyczne stosowane do analizy genów kodujących białka muszą być bowiem stosowane ostrożnie i często wymagają istotnych modyfikacji, zanim zostaną wykorzystane w analizach lncRNA. Zadanie jakie postawiła przed sobą Doktorantka – scharakteryzowanie funkcjonalne jednego z lncRNA – było więc ambitne i dobrze wpisywało się we współczesne kierunki badań.

Wybór tematu był konsekwencją wcześniejszych prac zespołu. Badania prowadzone przez zespół Promotora, pani prof. dr hab. Jolanty Kupryjańczyk i Promotora Pomocniczego, pana dr n. med. Łukasza Szafrona pozwoliły na zsekwencjonowanie dwóch transkryptów genu CRNDE oraz wykazanie że

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

jeden z transkryptów może kodować mikropeptyd (CRNDEP). Wstępna charakterystyka transkryptów CRNDE pokazała ich zwiększoną ekspresję w komórkach o dużym potencjale proliferacyjnym i wskazała na ich możliwe znaczenie jako czynnika prognostycznego w raku jajnika. Doktorantka była zaangażowana w te prace, o czym świadczy współautorstwo publikacji. Rozprawa doktorska opisuje doświadczenia będące bezpośrednią i logiczną kontynuacją wcześniejszych badań.

Rola CRNDE budzi zainteresowanie wielu zespołów. Obecnie znanych jest kilkanaście wariantów splicingowych, udowodniona została ich wysoka ekspresja w kilku typach nowotworów, wskazano też kilka szlaków których aktywność może być regulowana przez CRNDE – przede wszystkim szlaki zależne od PI3K/Akt, Wnt/ $\beta$ -kateniny i mTOR oraz od Notch1. Wskazano też kilka miRNA (np. miR-384, miR-136, czy miR-423), których aktywność jest regulowana przez CRNDE. Uważa się, że CRNDE promuje proliferację, migrację i inwazyjność komórek, hamuje ich apoptozę i wpływa na odpowiedź zapalną. Wysoki poziom ekspresji wiąże się z opornością na chemioterapię i radioterapię. W poznaniu roli CRNDE znaczący udział miały prace macierzystego zespołu Doktorantki. Znaczenie transkryptów CRNDE w komórkach raka jajnika, a zwłaszcza rola mikropeptydu CRNDEP to temat jedynie nielicznych badań. Cele postawione sobie przez Doktorantkę mają więc charakter nowatorski.

Działanie CRNDE podobnie jak aktywność wielu lncRNA jest pleiotropowe. To prawdopodobnie przyczyna dla której podstawowy cel rozprawy doktorskiej został sformułowany mało precyzyjnie, jako dalsze badania roli CRNDE w nowotworzeniu. Konkretnie zadania badawcze są jednak wskazane wystarczająco precyzyjnie. Doktorantka chciała określić wpływ CRNDE na aktywność komórek raka jajnika skupiając się na proliferacji i wrażliwości komórek na cytostatyki działające na mikrotubule cytoszkieletu. Ciekawym zadaniem było też określenie lokalizacji i potencjalnej funkcji mikropeptydu CRNDE.

Pani mgr Anna Balcerak prowadziła badania na liniach ludzkich komórek raka jajnika SK-OV-3, A2780, IGROV-1 i TOV112 oraz raka szyjki macicy HeLa. W wybranych liniach stabilnie wyciszyła ekspresję endogennego CRNDE albo wprowadziła transgen kodujący mikropeptyd CRNDEP.

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

Realizacja projektu wymagała zastosowania przez Doktorantkę nowoczesnych technik biologii molekularnej i komórkowej. Zestaw metod wykorzystywanych w badaniach obejmował przede wszystkim profilowanie transkryptomu na podstawie RNA-seq, stąd wiele wniosków opiera się głównie na analizach bioinformatycznych i ma charakter pośredni. Najważniejsze konkluzje zostały potwierdzone doświadczalnie. Wartościowym podejściem było również wykonanie chromatografii powinowactwa i spektrometrii mas w celu identyfikacji potencjalnych partnerów CRNDEP oraz koimmunoprecypitacji w celu potwierdzenia wyników. Zestaw metod wykorzystywanych w analizach funkcjonalnych jest dość ograniczony, ale pozwala na uzyskanie odpowiedzi na najważniejsze pytania. Czasochłonne i złożone było przygotowanie konstruktów genetycznych oraz uzyskanie potrzebnych linii komórkowych wraz z liniami kontrolnymi. Ich przygotowanie zasługuje na uznanie. Zadanie wymagało ligacji klonowanych fragmentów DNA, prowadzenia analiz restrykcyjnych i kontrolnego sekwencjonowania produktów, a następnie namnażania wektorów plazmidowych. Stabilne modyfikacje linii komórkowych wykonano z wykorzystaniem edycji genomu za pomocą CRISPR-Cas9. Skuteczność zaplanowanej strategii i uzyskanie pożądanych linii potwierdzono wykonując prawidłowo wybrane testy. Doktorantka badała ekspresję genów na poziomie mRNA (wykorzystując qRT-PCR) i białka (wykorzystując głównie barwienia immunofluorescencyjne *in-situ*, western-bloty i dot-bloty). Podstawowe testy funkcjonalne zastosowane w badaniach to analiza cyklu komórkowego i adhezji komórek do podłoża. W analizach cyklu komórkowego wykorzystywała cytometrię przepływową. Wykonanie badań wymagało dobrego opanowania metod edycji genomu i analiz bioinformatycznych.

Najciekawsze, moim zdaniem, wyniki uzyskane przez Doktorantkę to i) potwierdzenie, że CRNDE reguluje proliferację komórek oraz wpływa na formowanie cytoszkieletu mikrotubularnego, ii) opisanie jądrowej lokalizacji mikropeptydu CRNDEP oraz jego możliwych interakcji z białkami związanymi z metabolizmem RNA, iii) wykazanie, że wysoki poziom ekspresji CRNDE zwiększa oporność komórek raka jajnika na cytostatyki działające na cytoszkielet i zaproponowanie strategii przełamania oporności poprzez połączenie dwóch leków o odmiennym działaniu na mikrotubule.



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,  
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii  
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

[alicia.jozkowicz@uj.edu.pl](mailto:alicia.jozkowicz@uj.edu.pl)

Rozprawa doktorska pani mgr Anny Balcerak liczy 175 stron maszynopisu, w tym 62 rysunki i fotografie oraz 16 tabel. Cytowane piśmiennictwo to 248 pozycji. Praca zbudowana jest w sposób klasyczny i obejmuje: Wstęp, osobny rozdział przedstawiający Cele Pracy, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusję oraz wyodrębnione w osobny rozdział Wnioski. Całość poprzedzona jest Spisem Treści oraz Streszczeniem i angielskim Abstraktem, a zakończona Bibliografią i krótkim Suplementem. Zarówno kompozycja pracy jak i zawartość poszczególnych części są prawidłowe, a Spis Treści jest dobrze przygotowany. Nieco brakuje umieszczanego zwykle w pracach wykazu skrótów, ale nie stanowi to błędu.

Streszczenie (podobnie jak angielski Abstrakt) jest napisane poprawnie, choć styl mógłby być bardziej oszczędny, co pozwoliłoby na skrócenie tekstu. Nie są potrzebne zdania typu „Dzięki badaniom opisanym w niniejszej pracy uzyskano wiele oryginalnych wyników poszerzających aktualny stan wiedzy”, bo nie wnoszą rzeczywistej informacji. Niemniej Streszczenie jasno przedstawia założenia, metodykę i wnioski z najważniejszych doświadczeń oraz dobrze podsumowuje pracę.

Liczący 20 stron Wstęp jest prawidłowo skomponowany i napisany bardzo ciekawie. Dostarcza wielu istotnych wiadomości bezpośrednio związanych z prowadzonymi badaniami i dobrze świadczy o znajomości tematu przez Doktorantkę. Rozpoczyna się od scharakteryzowania etiologii i typowych terapii raka jajnika, ze szczególnym uwzględnieniem cytostatyków wpływających na cykl komórkowy i cytoszkielet. Sporo miejsca poświęca budowie i funkcji szkieletu mikrotubularnego, bardzo dobrze tłumacząc dynamikę formowania mikrotubul i mechanizmy działania leków wpływających na mikrotubule. Unika przy tym ryzyka napisania „leksykonu” – poszczególne omawiane zagadnienia logicznie wynikają z wcześniejszego tekstu.

Kolejnym poruszonym we Wstępie tematem jest charakterystyka lncRNA i ich roli w epigenetycznej regulacji ekspresji genów i dojrzewaniu mRNA oraz ich potencjalnemu wykorzystaniu w diagnostyce i leczeniu nowotworów. Końcowa część Wstępu poświęcona jest dokładnemu omówieniu lncRNA CRNDE i peptydu CRNDEP, w tym opisowi wcześniejszych wyników badań zespołu w którym pracuje Doktorantka.



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

[alicia.jozkowicz@uj.edu.pl](mailto:alicia.jozkowicz@uj.edu.pl)

Wstęp napisany jest komunikatywnym i poprawnym stylistycznie językiem, bardzo dobrze wprowadza w zagadnienia i przekonująco uzasadnia celowość podjęcia badań przedstawionych w pracy. Ilustrowany jest starannymi i przemyślanymi schematami. Stanowi mocny punkt rozprawy.

Doktorantka na 37 stronach opisuje metody stosowane w pracy. Opisy te są prawidłowe i dokładne, w pełni wystarczające do powtórzenia przeprowadzonych doświadczeń. Przydatne jest zestawienie sekwencji stosowanych primerów oraz podanie numerów katalogowych wykorzystywanych przeciwciał i odczynników. Bardzo pomocne są także przedstawione mapy konstruktów, opisy strategii klonowań oraz podkreślenie znaczenia funkcjonalnego poszczególnych sekwencji. Zwraca również uwagę uwzględnienie informacji o tym kto projektował sondy i primery, jeśli nie były projektowane przez Doktorantkę i kto pomagał w niektórych analizach bioinformatycznych.

Strategie przygotowywania konstruktów genetycznych są dobrze przemyślane. Warto podkreślić dobry wybór miejsca wklonowania transgenu oraz wykorzystywanie zmutowanej, bardziej specyficznej wersji Cas9. To szczegóły metodyczne decydujące o efektywności i jakości badań. Nie jest jedynie dla mnie jasne w jaki sposób wysiewano pojedyncze komórki na płytki 96-dołkowe (str. 66). Nie ma informacji o sortowaniu. Opis na str. 67 może wskazywać na wykorzystanie odpowiednio dobranych rozcieńczeń a nie na sortowanie komórek, niemniej nie jest to opis jednoznaczny. W metodyce brakuje opisu techniki dot-blot, która była używana do scharakteryzowania modyfikowanych komórek. Na str. 48 Doktorantka wspomina, że stężenia cytostatyków wybrane zostały na podstawie danych literaturowych. W tym miejscu powinny być więc zacytowane prace źródłowe. To jednak jedynie uwaga o charakterze formalnym.

Wyniki (zajmujące 55 stron) są jasno opisane i zilustrowane odpowiednimi wykresami, tabelami oraz przekonującymi zdjęciami. Jest to najdłuższa część rozprawy. Co ważne, Doktorantka dąży do opisania doświadczeń tak, by widać było logiczne związki między kolejnymi etapami prac. Ułatwia to śledzenie toku rozumowania Autorki i zrozumienie zasadności kolejnych kroków.



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

[alicia.jozkowicz@uj.edu.pl](mailto:alicia.jozkowicz@uj.edu.pl)



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Pierwsza część opisu Wyników poświęcona jest przygotowywaniu i scharakteryzowaniu linii komórkowych z wyciszeniem CRNDE lub nadekspresją CRNDEP wykorzystywanych w późniejszych doświadczeniach. Ta część mogłaby stanowić część rozdziału Materiały i Metody, ale ujęcie zaproponowane przez Doktorantkę jest również akceptowalne.

Druga część Wyników przedstawia analizy bioinformatyczne danych z RNA-seq i profile transkryptomu komórek z wyciszonym genem CRNDE. Porównanie wykorzystania dwóch programów do mapowania odczytów oraz dwóch programów do analiz różnicowych potwierdza wiarygodność uzyskanych danych. Uzyskane wyniki są bardzo dobrej jakości, z niewielką zmiennością w obrębie testowanych grup. Analizy ontologiczne z wykorzystaniem baz GO, MSigDB i KEGG oraz programów EnrichR i ShinyGO pozwoliły na uzyskanie ogólnego obrazu zmian w komórkach z wyciszonym genem CRNDE. Wskazują one na różnice w ekspresji (przede wszystkim zwiększenie ekspresji) genów związanych z replikacją i naprawą DNA, proliferacją i różnicowaniem komórek oraz ich interakcjami z macierzą zewnątrzkomórkową i funkcjonowaniem cytoszkieletu. Wskazały również na zmiany w obrębie szlaków zależnych od PI3K/AKT, Wnt/ $\beta$ -kateniny i mTOR. Analizy tego typu dostarczają bardzo dużo danych, niemniej nie wystarczają do zrozumienia mechanizmu obserwowanych modyfikacji i powinny być traktowane jako punkt wyjścia do eksperymentalnego potwierdzania wskazanych zależności. Przede wszystkim trudno określić jakie zmiany są indukowane bezpośrednio przez wyciszenie CRNDE, a jakie są pośrednią konsekwencją np. zmian w cyklu komórkowym i proliferacji. Na uznanie zasługuje próba podjęta przez Doktorantkę polegająca na doświadczalnej weryfikacji najważniejszych wniosków, przynajmniej na poziomie funkcjonalnym, choć bez analizy mechanizmów molekularnych. Doktorantka pokazała zmniejszenie proliferacji w komórkach z wyciszonym CRNDE, co nie było oczywiste w świetle danych transkryptomowych. Wyniki te zostały potwierdzone z wykorzystaniem dwóch różnych testów oraz linii komórkowych z nadekspresją CRNDE, gdzie wysoki poziom aktywności genu prowadził do zwiększenia proliferacji. Byłabym natomiast ostrożna w określaniu testu redukcji MTT (str. 110 i 137) jako metody analizy tempa proliferacji komórek. To zbyt daleko idące uproszczenie, choć uzyskane wyniki

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicia.jozkowicz@uj.edu.pl

mogą potwierdzać nasilenie podziałów komórkowych. W innym miejscu pracy (str. 119) prawidłowo wskazano, że test pozwala na ocenę aktywności metabolicznej komórek (w zasadzie aktywności dehydrogenaz mitochondrialnych).

Doktorantka oceniała także przyleganie komórek do podłoża analizując powierzchnię płytek przylegania. Stwierdziła, że obniżenie ekspresji CRNDE wiąże się z osłabieniem adhezji komórek do podłoża. W związku z tymi doświadczeniami mam dwa pytania: i) Jaki może być powód różnic obserwowanych w dwóch liniach kontrolnych przy pomiarach średniej powierzchni płytki (rys. 46)? ii) Czy w analizach tych próbowano synchronizować cykl komórkowy lub uwzględnić fazę cyklu?

Bardzo ciekawą częścią pracy jest opis lokalizacji mikropeptydu CRNDEP oraz identyfikacja jego partnerów, zwłaszcza biorąc pod uwagę ograniczenia metodyczne utrudniające badania tego typu cząsteczek. Zastosowanie nadekspresji peptydu oraz peptydu z metką było dobrym podejściem, choć optymalna będzie weryfikacja uzyskanych wyników w miarę możliwości w układzie natywnym, na co zwraca uwagę Doktorantka w dyskusji uzyskanych wyników. Przeprowadzone badania przekonująco wskazują na możliwy udział CRNDEP w metabolizmie RNA i kontroli fałdowania białek.

Dyskusja zajmuje 18 stron i skupia się przede wszystkim na podsumowaniu uzyskanych wyników oraz ich omówieniu w świetle wcześniej opublikowanych prac. Porządkuje uzyskane dane i podkreśla prawdopodobne znaczenie badanego genu w promowaniu nowotworzenia i zwiększaniu oporności na cytostatyki. Trochę brakuje mi podejścia bardziej syntetycznego, ze wskazaniem które z obserwowanych zmian mogą być najistotniejsze, a przede wszystkim które mogą wynikać bezpośrednio z aktywacji CRNDE w wybranym układzie doświadczalnym. Należy jednak zaznaczyć, że Doktorantka wystarczająco dokładnie omawia mechanizmy molekularne odpowiedzialne za regulację proliferacji zidentyfikowane przez innych autorów jako mediatory aktywności CRNDE, co pośrednio odnosi się do uzyskanych wyników. Dyskusja potwierdza też, że Doktorantka zdaje sobie sprawę, że analizy transkryptomu nie pozwalają na jednoznaczne przewidywanie zmian funkcjonalnych w komórkach.



UNIwersytet  
Jagielloński  
w Krakowie

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

[alicia.jozkowicz@uj.edu.pl](mailto:alicia.jozkowicz@uj.edu.pl)

Bardzo interesujący jest fragment dyskusji dotyczący możliwego znaczenia mutacji w genie kodującym p53 w linii SK-OV-3 dla zmian w ekspresji genów związanych z cyklem komórkowym, wywołanych wyciszeniem CRNDE. Ciekawe byłoby doświadczalne sprawdzenie sugerowanych zależności poprzez wprowadzenie do badanych komórek prawidłowego genu. Czy Doktorantka miała okazję przeprowadzić tego typu analizy?

Wartościową częścią dyskusji są rozważania na temat trudności metodycznych związanych z badaniami mikropeptydów oraz odrębności kryteriów stosowanych w analizach transkryptów kodujących białka i lncRNA. Widać tu osobiste doświadczenie Doktorantki i dobre rozeznanie tematu. Zgadzam się też z wnioskiem że brak możliwości bezpośredniego wykrycia mikropeptydu CRNDEP w komórkach może być konsekwencją ograniczeń technicznych i nie powinien być traktowany jako „dowód na nieistnienie”. Bardzo dobrym pomysłem jest zasugerowane przez Doktorantkę wykorzystanie konstruktu z metką wstawioną w locus CRNDE ale z zachowaniem endogennego promotora i natywnej ramki odczytu.

Dyskusja kończy się Podsumowaniem, wyodrębnionym w osobny podrozdział. Stanowi ono dobre streszczenie najważniejszych wniosków, podkreśla również istotność zaobserwowanego wpływu ekspresji CRNDE na metabolizm mikrotubul i funkcje cytoszkieletu. Wymowa pierwszego zdania jest jednak zbyt mocna – opisane w rozprawie badania nie potwierdzają przyspieszenia migracji i nasilenia przerzutowania komórek z wysokim poziomem ekspresji CRNDE (te parametry nie były badane), nie potwierdzają też, że badany lncRNA działa poprzez wychwytywanie miRNA. Moim zdaniem nie ma również jednoznacznego dowodu na biologiczną rolę mikropeptydu, gdyż dane korelacyjne nie są wystarczające. Uzyskane wyniki wskazują na takie możliwości, a nawet stanowią silne przesłanki, ale nie są rozstrzygające, gdyż eksperymentalna weryfikacja tych przypuszczeń nie została przeprowadzona. Dlatego uważam że Podsumowanie powinno być sformułowane ostrożniej, przy czym jest to zastrzeżenie bardziej natury stylistycznej niż merytorycznej. Jakość przeprowadzonych badań i ich omówienie w rozprawie oceniam wysoko.

Pod względem edytorskim rozprawa doktorska przygotowana jest starannie, zawiera bardzo niewiele błędów literowych i nieco więcej

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

interpunkcyjnych. Napisana jest dobrym językiem, ciekawie i przekonująco. Graficzne przedstawienie wyników i przygotowane schematy są bardzo dobrej jakości, legendy rycin zawierają wszystkie potrzebne informacje i przygotowane są prawidłowo (choć zdarzają się drobne uchybienia edycyjne np. w doborze czcionek). Miałam problem ze znalezieniem w tekście odwołań do niektórych rysunków (na rys. 1, 10, 11, 16, 26-33, 39, 42, 43), ale lokalizacja rysunków pozwalała na łatwe śledzenie toku rozumowania.

Podsumowując, badania opisane przez Doktorantkę dotyczą aktualnych, ciekawych i ważnych zagadnień. Rozprawa dowodzi bardzo dobrej znajomości tematu i dużego doświadczenia Autorki zarówno w wykonywaniu doświadczeń jak i analizie oraz interpretacji uzyskiwanych danych. Dzięki wykorzystaniu dobrze zaplanowanych układów doświadczalnych i oraz przeprowadzeniu badań funkcjonalnych *in-vitro* uzupełniających analizy transkryptomowe i proteomiczne, Doktorantka uzyskała wartościowe wyniki, pozwalające na wyciągnięcie wiarygodnych wniosków. Uważam, że Doktorantka prawidłowo zrealizowała założone cele badawcze i stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wszystkie wymogi rozprawy doktorskiej. W związku z tym proszę wysoką radę Narodowego Instytutu Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie o dopuszczenie pani mgr Anny Balcerak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,  
Biofizyki i Biotechnologii  
Zakład Biotechnologii  
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7  
PL 30-387 Kraków  
tel. +48 12 664 6411  
+48 519 347 621  
fax +48 12 664 6918  
alicja.jozkowicz@uj.edu.pl