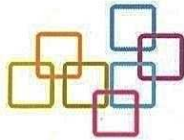


Bydgoszcz, dnia 17.02.2015 r.

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Joanny Chamier-Ciemińskiej pt.
„Zastosowanie profilowania mRNA do identyfikacji ludzkich płynów
biologicznych w genetyce sądowej”**

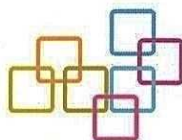
Wykrywanie i identyfikacja płynów biologicznych pochodzenia ludzkiego za pomocą tkankowo-specyficznych markerów mRNA wydaje się być jednym z najbardziej aktualnych i najintensywniej rozwijających się kierunków we współczesnej genetyce sądowej. Naturalne zapotrzebowanie na badania tego rodzaju wynikało z braku klasycznych, swoistych metod wykrywania płynów biologicznych innych niż krew i nasienie, co było istotnym ograniczeniem warsztatu genetyki sądowej w zakresie badań śladów biologicznych. Określenie tkankowej przynależności śladu może mieć tymczasem kluczowe znaczenie dla odtwarzania przebiegu zdarzeń będących przedmiotem zainteresowania wymiaru sprawiedliwości i organów ścigania. Dlatego też międzynarodowe środowisko genetyków sądowych w ostatnich latach stara się wypracować i wprowadzić w praktyce różne metody określania przynależności tkankowej śladów biologicznych oparte na profilowaniu mRNA, co wydaje się równie ważne, jak stałe rozwijanie warsztatu porównawczych i predykcyjnych badań DNA. O aktualności tego zagadnienia świadczy m.in. fakt, że Europejska Grupa ds. Profilowania DNA (EDNAP) skupiająca różne ośrodki genetyki sądowej regularnie organizuje i publikuje wyniki międzylaboratoryjnych eksperymentów w tej dziedzinie (np. Haas i wsp., *Forensic Sci Int* 2015, 16: 139-147). Praca doktorska mgr Joanny Chamier-Ciemińskiej, opisująca m.in. nowe, oparte na detekcji mRNA podejścia do identyfikacji wydzieliny z dróg rodnych i krwi miesięczkowej oraz do rozróżniania pomiędzy krwią miesięczkową i obwodową, idealnie wpisuje się w tą problematykę.

Na rozprawę doktorską składają się trzy, spójne tematycznie publikacje umieszczone w czasopismach recenzowanych o zasięgu międzynarodowym, w tym dwie prace oryginalne z czasopisma *Forensic Science International: Genetics* z listy

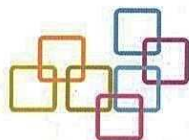


JCR (IF za rok 2013 = 3,202) oraz artykuł przeglądowy z periodyku *Z Zagadnień Nauk Sądowych*. Publikacje są poprzedzone streszczeniem w języku polskim i angielskim, stanowiącym zwięzłe, acz treściwe wprowadzenie do problematyki cyklu i omówienie najważniejszych wyników. Doktorantka jest pierwszym autorem każdej z prac, a jej decydujący udział w ich powstaniu nie budzi wątpliwości w świetle zamieszczonych oświadczeń współautorów. Do grona współautorów należą jedynie promotorzy w przewodzie doktorskim (prof. Ryszard Pawłowski oraz prof. Krzysztof P. Bielawski) oraz dodatkowo jedna osoba (dr Agnieszka Maciejewska) wykonująca czynności pomocnicze i nadzorcze w zbieraniu materiału badawczego, laboratoryjnej organizacji eksperymentów i edycji manuskryptów. Warto podkreślić, że *Forensic Science International: Genetics* jest obecnie czołowym czasopismem naukowym z zakresu genetyki sądowej, plasującym się według bazy *Web of Science* w pierwszym kwartylu czasopism z kategorii „*Medicine, Legal*”. Z kolei *Z Zagadnień Nauk Sądowych* jest w chwili obecnej najwyższym punktowanym przez MNIŚW czasopismem poświęconym szeroko rozumianym naukom sądowym, chętnie czytany przez szerokie grono odbiorców, od lekarzy i genetyków, po prawników i kryminologów. Nie ulega wątpliwości, że prace mgr Joanny Chamier-Ciemińskiej były recenzowane przez specjalistów z zakresu genetyki sądowej i w ten sposób dorobek składający się na jej rozprawę doktorską został już raz pozytywnie zweryfikowany. Na podkreślenie zasługuje fakt, że praca dotycząca identyfikacji wydzieliny z dróg rodnych i krwi miesięczkowej za pomocą profilowania RNA (publikacja nr 2), zamieszczona w *Forensic Science International: Genetics* w roku 2013 doczekała się sześciu cytowań (według bazy *Web of Science*), mimo wąskiej i specjalistycznej problematyki. Dodatkowo, jak podkreśliła doktorantka w streszczeniu rozprawy, procedura opracowana w ramach publikacji nr 2 została również przedstawiona w postaci rozdziału w książce *Forensic DNA Typing Protocols* (Ed.: W. Goodwin, Springer, w druku), wartościowej serii zawierającej szczegółowe protokoły laboratoryjne.

Motywnym przewodnim wszystkich trzech prac składających się na rozprawę kandydatki do stopnia naukowego jest poszukiwanie, optymalizacja oraz ocena przydatności metod identyfikacji ludzkich płynów biologicznych opartych na

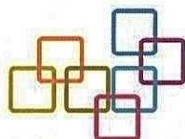


wykrywaniu specyficznych cząsteczek mRNA. Praca przeglądowa (nr 1) stanowi kompetentne wprowadzenie do tej problematyki. Autorka podkreśla w niej praktyczne znaczenie profilowania RNA w identyfikacji różnych płynów biologicznych dla celów sądowych oraz krytycznie omawia wszystkie dostępne w roku 2011 markery RNA, ich specyficzność, stabilność, czułość, a także laboratoryjne metody ich badania. Praca ta jest w moim przekonaniu świadectwem bardzo dobrego, teoretycznego przygotowania doktorantki do podjęcia własnych badań w tej dziedzinie. Z kolei prace eksperymentalne (nr 2 i 3) dowodzą z jednej strony doskonałego opanowania przez doktorantkę laboratoryjnego warsztatu biologii molekularnej, z drugiej zaś dojrzałości naukowej i bardzo dobrego wyczucia aktualnych potrzeb genetyki sądowej. Prace wymagały zgromadzenia różnorodnego materiału biologicznego, m.in. w postaci próbek wydzieliny z dróg rodnych i krwi miesięczkowej kobiet w różnych stadiach cyklu, nasienia, śliny, potu, krwi obwodowej czy plam zdeponowanych na różnych podłożach. Techniki badawcze obejmowały m.in. izolację RNA, odwrotną transkrypcję, optymalizację oraz przeprowadzenie multipleksowej amplifikacji cDNA oraz detekcję produktów poprzez elektroforezę kapilarną. Kluczowym zagadnieniem badawczym w obu pracach była oczywiście właściwa selekcja markerów. O ile w większości opisanych do tej pory testów mRNA do wykrywania płynów biologicznych starano się wykorzystywać markery pozwalające na identyfikację jak największej liczby różnych płynów biologicznych, o tyle doktorantka poszła inną drogą, próbując zmaksymalizować liczbę markerów specyficznych dla danego płynu biologicznego w ramach jednego testu. Założenie takie jest jak najbardziej uzasadnione - pozwala na dopasowanie testu do specyfiki badanych śladów biologicznych i w rezultacie umożliwia uzyskanie możliwie najściślejszej informacji na temat rodzaju śladu. I tak w ramach publikacji nr 2 mgr Chamier-Ciemińska skonstruowała heksapleksową reakcję wykorzystującą transkrypty ludzkich genów beta-defensyny 1 (*HBD1*), mucyny 4 (*MUC4*), metaloproteinazy 11 (*MMP11*), bakteryjne markery ISR 16S-23S rRNA *Lactobacillus crispatus* i *Lactobacillus gasseri /johnsonii* oraz gen ludzkiego metabolizmu podstawowego dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (*G6PDH*). Zaprojektowany test został wszechstronnie zweryfikowany w analizach różnych śladów biologicznych, w tym m.in. w mieszaninach wydzieliny z dróg rodnych, krwi i nasienia. Ocenie poddano występowanie i ekspresję markerów u różnych kobiet w



różnych okresach cyklu menstruacyjnego; przeprowadzono również analizę wrażliwości reakcji PCR na inhibicję. W konkluzji pracy autorka stwierdziła, że opracowany przez nią test pozwala na wykrywanie wydzieliny z dróg rodnych w śladach biologicznych z wysoką wiarygodnością i specyficznością; co ciekawe, mimo z definicji niższej stabilności RNA niż DNA, test pozwala na identyfikację materiału żeńskiego w plamach liczących od dwóch do osiemnastu lat, w zależności od warunków przechowywania. Z kolei w ramach publikacji nr 3 doktorantka zaproponowała reakcję heksapleksową, wykorzystującą, oprócz wspomnianych powyżej transkryptów ludzkich genów *HBD1*, *MUC4*, *MMP11* i *G6PDH*, również markery metaloproteinazy 7 (*MMP7*), syntazy kwasu delta-aminolewulinowego 2 (*ALAS2*) i podjednostki alfa hemoglobiny (*HBA*). Test okazał się być wiarygodną metodą potwierdzającą obecność krwi miesięczkowej w plamach krwi przechowywanych do 1-2 lat w temperaturze pokojowej. Praca jest doskonałą odpowiedzią na zapotrzebowanie genetyków sądowych na wiarygodną metodę odróżniania krwi miesięczkowej od obwodowej. Najlepszą ilustracją przydatności tego rodzaju reakcji jest opisany w publikacji nr 3 ciekawy przypadek badania śladów biologicznych na bieliźnie i spodniach ofiary napaści seksualnej. Opracowany przez doktorantkę test pozwolił na ujawnienie krwi obwodowej ofiary na spodniach oraz mieszaniny wydzieliny z dróg rodnych i krwi obwodowej ofiary na bieliźnie. Aplikacyjna wartość wyników badań przedstawionych w pracach eksperymentalnych składających się na rozprawę zasługuje na szczególne podkreślenie – w istocie prace te zawierają doskonale zaprojektowane, wszechstronnie zwalidowane i zweryfikowane w praktyce protokoły, przydatne dla środowiska genetyków sądowych w kraju i zagranicą.

Podsumowując powyższe rozważania z pełnym przekonaniem stwierdzam, że cykl publikacji przedstawionych w ramach rozprawy mgr Joanny Chamier-Ciemńskiej spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim, tj. stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jest świadectwem odpowiedniej wiedzy teoretycznej kandydatki i świadczy o jej umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Dlatego też wnoszę do Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i



Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Joanny Chamier-Ciemińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, podkreślając trafność założeń badawczych, doskonale opanowanie warsztatu laboratoryjnego, niewątpliwe znaczenie praktyczne wyników badań oraz wysokie wskaźniki bibliometryczne przedstawionych publikacji, wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Kierownik
Katedry Medycyny Sądowej
prof. dr hab. Tomasz Grzybowski