

Autoreferat

1. **Imię i nazwisko:** Dorota Monies
Data i miejsce ur. 20.06.1969, Lublin

2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:**
 - 28 maj 1998 – **Stopień doktora nauk medycznych** uzyskany na Wydziale I Lekarskim Akademii Medycznej w Lublinie (dzisiejszy Uniwersytet Medyczny w Lublinie). Tytuł rozprawy doktorskiej: „**Tripleks STR (F13A01,FES/FPS i vWA) w populacji Polski południowo-wschodniej i jego przydatność w badaniach sądowych**” (Promotor: Prof. dr. hab. n. med. Roman Mądro)
 - 18 maj 1994 – **Tytuł magistra biotechnologii** uzyskany na Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**
 - 01.02.1994 – 01.12.2005: Samodzielny referent techniczny/Asystent, Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Lublinie
 - 02 .01.2006 – 14.04.2010: **Pomocniczy pracownik naukowy (ang. Associate Scientist)** Departament Genetyki, King Faisal Specialist Hospital and Research Centre, Riyadh, Arabia Saudyjska
 - 15.04.2010 – nadal: **Pracownik naukowy (ang. Scientist)**, Departament Genetyki, King Faisal Specialist Hospital and Research Centre, Riyadh, Arabia Saudyjska

4. **Wskazanie osiągnięcia*** wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

Tytuł cyklu tematycznego prac: „**Diagnostyka molekularna w rzadkich chorobach Genetycznych**”.

Podstawa ubiegania się o tytuł doktora habilitowanego stanowi cykl 6 publikacji powiązanych tematycznie, opublikowanych w latach 2014-2017:

a) Wykaz publikacji wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego:

1. **Monies DM**, Al-Hindi HN, Al-Muhaizea MA, Jaroudi DJ, Al-Younes B, Naim EA, Wakil SM, Meyer BF, Bohlega S. Clinical and pathological heterogeneity of a congenital disorder of glycosylation manifesting as a myasthenic/myopathic syndrome. *Neuromuscul Disord.* 2014, 24(4):353-9, **IF=2,638, MNiSW=30**
2. **Monies DM**, Rahbeeni Z, Abouelhoda M, Naim EA, Al-Younes B, Meyer BF, Al-Mehaidib A. Expanding phenotypic and allelic heterogeneity of tricho-hepato-enteric syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015, 60(3):352-6, **IF=2,400, MNiSW=30**
3. **Monies D**, Alhindi HN, Almuhaizea MA, Abouelhoda M, Alazami AM, Goljan E, Alyounes B, Jaroudi D, AlIssa A, Alabdulrahman K, Subhani S, El-Kalioby M, Faquih T, Wakil SM, Altassan NA, Meyer BF, Bohlega S. A first-line diagnostic assay for limb-girdle muscular dystrophy and other myopathies. *Hum Genomics.* 2016, 10(1):32, **IF=3,327, MNiSW=30**
4. **Monies D**, Maddirevula S, Kurdi W, Alanazy MH, Alkhalidi H, Al-Owain M, Sulaiman RA, Faqeih E, Goljan E, Ibrahim N, Abdulwahab F, Hashem M, Abouelhoda M, Shaheen R, Arold ST, Alkuraya FS. Autozygosity reveals recessive mutations and novel mechanisms in dominant genes: implications in variant interpretation. *Genet Med.* 2017, Oct;19(10):1144-1150, **IF=8,229, MNiSW=40**
5. **Monies D**, Abouelhoda M, AlSayed M, Alhassnan Z, Alotaibi M, Kayyali H, Al-Owain M, Shah A, Rahbeeni Z, Al-Muhaizea MA, Alzaidan HI, Cupler E, Bohlega S, Faqeih E, Faden M, Alyounes B, Jaroudi D, Goljan E, Elbardisy H, Akilan A, Albar R, Aldhalaan H, Gulab S, Chedrawi A, Al Saud BK, Kurdi W, Makhseed N, Alqasim T, El Khashab HY, Al-Mousa H, Alhashem A, Kanaan I, Algoufi T, Alsaleem K, Basha TA, Al-Murshedi F, Khan S, Al-Kindy A, Alnemer

M, Al-Hajjar S, Alyamani S, Aldhekri H, Al-Mehaidib A, Arnaout R, Dabbagh O, Shagrani M, Broering D, Tulbah M, Alqassmi A, Almugbel M, AlQuaiz M, Alsaman A, Al-Thihli K, Sulaiman RA, Al-Dekhail W, Alsaegh A, Bashiri FA, Qari A, Alhomadi S, Alkuraya H, Alsebayel M, Hamad MH, Szonyi L, Abaalkhail F, Al-Mayouf SM, Almojalli H, Alqadi KS, Elsiey H, Shuaib TM, Seidahmed MZ, Abosoudah I, Akleh H, AlGhonaïum A, Alkharfy TM, Al Mutairi F, Eyaid W, Alshanbary A, Sheikh FR, Alsohaibani FI, Alsonbul A, Al Tala S, Balkhy S, Bassiouni R, Alenizi AS, Hussein MH, Hassan S, Khalil M, Tabarki B, Alshahwan S, Oshi A, Sabr Y, Alsaadoun S, Salih MA, Mohamed S, Sultana H, Tamim A, El-Haj M, Alshahrani S, Bubshait DK, Alfadhel M, Faquih T, El-Kalioby M, Subhani S, Shah Z, Moghrabi N, Meyer BF, Alkuraya FS. The landscape of genetic diseases in Saudi Arabia based on the first 1000 diagnostic panels and exomes. *Hum Genet.* 2017, Aug;136(8):921-939, **IF=4,637, MNiSW=35**

6. **Dorota Monies**, Hussam Abou Al-Shaar, Ewa A. Goljan, Banan Al-Younes, Muna Monther Abdullah Al-Breacan, Maher Mohammed Al-Saif, Salma M. Wakil, Brian F. Meyer, Khalid S. A. Khabar, and Saeed Bohlega. Identification of a novel genetic locus underlying tremor and dystonia. *Hum Genomics* 2017 Nov 6;11(1):25, **IF=3,327, MNiSW=30**

Łączny współczynnik oddziaływania Impact Factor zgłaszanych prac jako osiągnięcie wynosi 24,558 (pkt. MNiSW = 195)

- b) Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Udział czynnika genetycznego w chorobach człowieka jest znany od dawna, ale zastosowanie badań genetycznych do diagnostyki chorób jest wciąż sporym wyzwaniem. W wielu schorzeniach różne warunki środowiskowe mają wpływ na genetyczne ryzyko zachorowania i ustalenie rozpoznania klinicznego w takich sytuacjach ma swoje ograniczenia. W innych przypadkach, schorzenia mogą być

powodowane przez zmiany w pojedynczych genach i wtedy takie zaburzenia nazywane są chorobami mendlowskimi. Badanie jednogenowych chorób jest wysoce przydatne do poznania molekularnych mechanizmów, co w dużym stopniu przyczynia się do zrozumienia wszystkich rodzajów chorób genetycznych. Dzięki znajomości sekwencji genomu ludzkiego (po zsekwencjonowaniu pierwszego ludzkiego genomu w 2003 r.) oraz opracowaniu nowych technologii do jego badania tzw. sekwencjonowania następnej generacji (*ang. next generation sequencing, NGS*), znanego również jako równoległe masowe sekwencjonowanie, możliwa jest precyzyjna diagnostyka molekularna w schorzeniach genetycznych. Ponadto taka diagnostyka nie wymaga już szczegółowej oceny klinicznej pacjentów. Przedmiotem prac stanowiących podstawę niniejszego postępowania habilitacyjnego były badania dotyczące możliwości diagnostyki molekularnej w chorobach mendlowskich.

W artykule opublikowanym w *Neuromuscular Disorders* w 2014 (publikacja nr 1) badałam rodzinę beduińską pochodzącą z małej wioski na południowym zachodzie Półwyspu Arabskiego, w której rodzice byli ze sobą blisko spokrewnieni (pokrewieństwo pierwszego stopnia). W rodzinie tej było trzech pacjentów (dwie kobiety i jeden mężczyzna), którzy wykazywali wrodzoną słabość mięśni kończynowo-obręczowych bez porażenia ocznego lub opuszkowego. Wyniki badań stymulacji nerwów potwierdziły występowanie wrodzonego zespołu miastenicznego. Nasilenie i progresja choroby były zmienne oraz zróżnicowana była zdolność pacjentów do niezależnego poruszania się. Biopsja mięśni wykazała cechy zgodne z miopatią mitochondrialną. Analiza sprzężeń (*ang. linkage analysis*) zidentyfikowała haplotyp sprzężony z chorobą na chromosomie 9 (chr9:97,994,441-109,269,430). Dzięki zastosowaniu sekwencjonowania całego eksomu (*ang. whole exome sequencing, WES*), u probanda zidentyfikowałam mutację w genie *ALG2*. Ostatnio opisano przypadki występowania mutacji w tym genie, w związku z wrodzonym zespołem miastenicznym. Reakcja łańcuchowej polimerazy (*ang. polymerase chain reaction, PCR*) oraz sekwencjonowanie Sangera potwierdziły mutację w eksonie 1 w genie *ALG2*: c.214_224delGGGGACTGGCT delinsAGTCCCCG, p.72_75delGDWLinsSPR u tego pacjenta, która w pełni segregowała z chorobą w tej rodzinie. W ciągu ostatnich dwunastu miesięcy kilka genów (*ALG2, ALG14, DPAGT1, GFPT1*) znajdujących się w szlakach glikozylacji zostało powiązanych z wrodzonymi zespołami miastenicznymi. Zidentyfikowano, że niedobór *ALG2* jest związany z ciężkim zaburzeniem wielonarządowym i obejmuje upośledzenie

umysłowe, napady drgawkowe, rozczep tęczówki, hipomielinizację, powiększenie wątroby oraz koagulopatię. Dwa kolejne przypadki rodzin z patogennymi mutacjami genu *ALG2* zostały niedawno opublikowane, ale opisani pacjenci prezentowali stosunkowo łagodniejszą postać choroby, która zasadniczo ograniczyła się do dysfunkcji połączenia nerwowo-mięśniowego, obecnie diagnozowana jako kończynowo-obręczowa forma wrodzonego zespołu miastenicznego. Do tej pory zidentyfikowano tylko dziewięć przypadków z czterema mutacjami w genie *ALG2*, wliczając naszych pacjentów. Chociaż przeważają uszkodzenia w funkcji połączenia nerwowo-mięśniowego, u niektórych pacjentów znaczącą rolę ogrywa komponent mitochondrialny z cechami dystroficznymi mięśni. Co ważne, nie wszyscy pacjenci reagują na terapię inhibitorami cholinesterazy, a zmienność w pojawieniu się progresji choroby sugerują obecność mechanizmów kompensacyjnych, działanie modyfikatora lub innych genów kompensacyjnych w złożonych szlakach glikolizacji potranslacyjnej. Nasze wyniki badań podkreślają zróżnicowanie fenotypowe pacjentów z mutacjami genu *ALG2* oraz potrzebę rozważenia szerszego obrazu klinicznego w ich diagnostyce i leczeniu.

Molekularne badania genetyczne mają coraz większe znaczenie w diagnostyce i klasyfikacji wrodzonych zaburzeń biegunkowych (*ang. congenital diarrheal disorders*, CDD). Ta grupa chorób należy do najtrudniejszy przypadków klinicznych, ze względu na zły stan pacjentów oraz szeroką diagnostykę różnicową. Zespół włosowo-wątrobowo-jelitowy (*ang. tricho-hepato-entric syndrome*, THES), zwany również biegunką syndromiczną (*ang. syndromic diarrhea*, SD), jest rzadkim, zagrażającym życiu, zaburzeniem jelit wywołanym genetycznymi mutacjami. SD/THES opisano po raz pierwszy 20 lat temu, ale przyczynę choroby odkryto dopiero niedawno. Dotychczas na całym świecie opisano tylko 44 przypadki tego schorzenia. Jest to rzadka genetyczna choroba, wywoływana recesywnymi mutacjami w genach *TTC37* i *SKIV2L*. Białka kodowane przez te geny należą do kompleksu białkowego Ski, który wraz z egzosomem kontroluje procesy związane z metabolizmem RNA w komórkach człowieka. Nasze badanie opublikowane w *Journal of Pediatric Gastroenterology* (publikacja nr 2) opisuje po raz pierwszy genetyczną analizę pacjentów pochodzenia arabskiego, u których stwierdzono SD/THES. Sześciu pacjentów z czterech spokrewnionych saudyjskich rodzin, wykazywało ciężką i nieuleczalną biegunkę, która wystąpiła w ciągu pierwszych dwóch tygodniach życia. U wszystkich pacjentów obserwowano dysmorficzne cechy

twarzy (uwypuklone czoło oraz policzki, płaski i szeroki nos, oraz hiperteloryzm). Włosy charakteryzowały się nietypowym wzorem oraz zmniejszoną średnicą rdzenia włosa u dwóch pacjentów. Dwaj inni chorzy mieli mikrodoncie. Wszystkie badane osoby wykazywały zmiany skórne, które miały postać rozproszonych jasnobrązowych i hiperpigmentacyjnych plam zlokalizowanych w dolnej części ciała (w obrębie miednicy i kończyn dolnych). U dwóch pacjentów stwierdzono łagodne upośledzenie umysłowe a u jednego rozpoznano również napady drgawkowe. Biopsja jelita cienkiego wykazała u dwóch pacjentów, prawidłowe kosmki jelitowe z łagodnym wzrostem liczby komórek zapalnych oraz częściowy zanik kosmków z tym samym obrazem stanu zapalnego u jednej dziewczynki. Pięciu pacjentów otrzymywało żywienie pozajelitowe w różnym okresie czasu. Jeden chory pozostał zależny od takiego żywienia oraz miał wyłonioną kolostomię. Analiza sprzężeń genetycznych nie wykazała jednego wspólnego *locus*, co sugeruje różną lokalizację genów odpowiedzialnych za tę chorobę. Przeprowadziliśmy analizę sprzężeń genetycznych w obrębie rodziny, w której trzy osoby były chore (rodzina nr 1). Na podstawie tej analizy, uzyskaliśmy LOD score (*ang. logarithm of the odds, LOD*) w wysokości 2.9 na chromosomie 6 oraz 2.76 na chromosomie 12. Sekwencjonowanie całego eksomu probanda zidentyfikowało jedną homozygotyczną zmianę w genie *SKIV2L*, który ostatnio został powiązany z SD/THES. Reakcja PCR oraz sekwencjonowanie Sangera regionu w obrębie tej zmiany, wykazały nową mutację w eksonie 28 w genie *SKIV2L* (c.3559_3579del, p.1187_1193del). Badania te wykonywałam w czasie, kiedy wdroyliśmy nasz program sekwencjonowania genomu w populacji saudyjskiej Saudi Human Genome Program (SHGP) (http://rc.kfshrc.edu.sa/Genomic/SGP_Registry/Gene_search.asp). W zakresie tego projektu w oparciu o NGS zastosowaliśmy panele genowe, które włączały analizę wszystkich (ok. 3500) genów powiązanych z chorobami mendlowskimi. Zaprojektowaliśmy 13 paneli pokrywających całe spektrum chorób genetycznych u dzieci oraz dorosłych i nazwaliśmy go kolektywnie “Mendeliome”. U trzech pozostałych pacjentów (rodzina nr 2, 3 i 4) zastosowaliśmy gastrologiczno-jelitowy panel (*ang. gastrointestinal gene panel, GI*), który pozwolił na analizę wszystkich 178 genów połączonych z tą grupą chorób i opisanych w OMIM (*ang. Online Mendelian Inheritance in Man*). U jednego pacjenta zidentyfikowaliśmy nową, nie opisaną dotąd skracającą mutację (typu *nonsense*) w eksonie 39 genu *TTC37*: c.C4102T, p.Q1368X. U dwóch pozostałych pacjentów, panel GI wykrył tę samą delecję w genie *SKIV2L*,

którą znaleźliśmy w rodzinie nr 1. Poza klasycznymi objawami dla SD/THES, nasi pacjenci mieli liczne plamy *café au lait*, które zlokalizowane były wyłącznie w okolicach miednicy i kończyn dolnych. Taka prezentacja jest nowym objawem choroby u pacjentów z SD/THES. Nasze badanie rozszerzają alleliczną i fenotypową heterogeniczność zespołu schorzeń SD/THES oraz dodatkowo podkreślają wpływ *alleli* lub genów modyfikujących w określonych populacjach etnicznych.

Techniki WES mają duże zastosowanie w diagnostyce klinicznej, szczególnie w neurologii, gdzie szacuje się, że precyzyjną diagnozę otrzymuje ok. 25% pacjentów. Ze względu na wysoki koszt i stosunkowo długi czas badania oraz skomplikowaną interpretację, badania WES powinno się rozważać głównie w celu odkrywania nowych genów. Alternatywnym rozwiązaniem, które w znacznym stopniu znosi powyższe ograniczenia, jest grupowanie genów odpowiedzialnych za choroby w tzw. panele genowe. Dotychczas, zastosowano kilku różnych sposobów do konstruowania takich paneli genetycznych do diagnostyki pacjentów z dystrofią obręczowo-kończynową (LGMD, ang. Limb-Girdle Muscular Dystrophy). Dystrofie te wywoływane są przez mutacje w różnych genach i różnią się znacząco obrazem klinicznym. Dotychczas opisano co najmniej 8 genów związanych z LGMD1 (autosomalny dominujący sposób dziedziczenia) oraz 23 geny, w których mutacje prowadzą do różnych podtypów LGMD2 (autosomalny recesywny sposób dziedziczenia). Wydaje się, że wciąż jest jeszcze wiele nieodkrytych genów odpowiedzialnych za dystrofie mięśniowe. To zróżnicowanie genetyczne podkreśla problem złożonej diagnozy. Ze względu na to, że obraz kliniczny LGDM oraz innych zaburzeń miopatycznych jest bardzo podobny, precyzyjna diagnoza pacjentów bez użycia testów genetycznych jest bardzo trudna. W związku z tym wiele przypadków pozostaje niezdiagnozowanych. Celem naszego badania opublikowanego w *Human Genomics* (publikacji nr 3) było określenie diagnostycznej czułości neurologicznego panelu genetycznego w diagnozowaniu pacjentów z LGDM i innymi miopatiami. Panel ten zawierał 759 genów z bazy OMIM związanych z zaburzeniami neurologicznymi. W badaniu wzięli udział pacjenci z 50 losowo wybranych rodzin, u których nie przeprowadzono wcześniej badań genetycznych. Wszyscy wykazywali osłabienie mięśni obręczy biodrowej i barkowej. Biopsja mięśni we wszystkich przypadkach wykazała zmiany dystroficzne lub miopatyczne. Mutację odpowiedzialną za wywołanie choroby zidentyfikowano u 76% chorych (38 z 50 rodzin), z czego 29% (11) stanowiły zmiany opisane przez nas po raz pierwszy. Panel

neurologiczny ujawnił 34 patogenne warianty w genach związanych z LGDM i 4 mutacje odpowiedzialne za miopatie inne niż LGMD. Wykryto siedem podtypów LGDM2, u których najczęstszą przyczyną były mutacje w *DYSF* (LGMD2B). Inne, często zmutowane geny wykryte w naszym badaniu to *CAPN3* (LGMD2A) i *FKRP* (LGMD2I). Miopatie inne niż z LGMD były spowodowane mutacjami w genach odpowiedzialnych za wrodzone zaburzenia glikozylacji białek (*ALG2*), dystrofię mięśniową sztywnego kręgosłupa 1 (*SEPN1*), miopatię z ciałkami inkluzyjnymi 2/miopatia Nonaki (*GNE*) oraz neuropatię (*WNKI*). W stosunku do wcześniej opublikowanych danych, nasz panel uzyskał wyjątkowo wysoką wydajność diagnostyczną. Do oceny klinicznej przydatności naszych wyników zastosowaliśmy wytyczne podane przez American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Association for Molecular Pathology (AMP). Ta obiektywna i wystandaryzowana klasyfikacja wariantów NGS, została pierwszy raz użyta przez nas w molekularnej diagnostyce miopatii. W podobnych badaniach, stosujących panele genetyczne, wydajność diagnostyczna pacjentów z LGMD wynosiła od 16 do 65%. Lepsza wydajność naszego panelu (76%) może być związana ze znacznie większą ilością (759) testowanych genów oraz zastosowaniem go w populacji o wysokim stopniu spokrewnienia jej członków. Biorąc pod uwagę bardzo wysoką heterogenność genetyczną (podobny fenotyp wywoływany przez mutacje w wielu różnych genach) i fenotypową (mutacje w tym samym genie związane z wieloma fenotypami) charakterystyczne dla LGDM i innych miopatii, nasz panel genetyczny obejmujący obszerną listę genów powiązanych z zaburzeniami nerwowo-mięśniowymi, które mogą być testowane w tym samym czasie, stanowi bardzo skuteczne narzędzie diagnostyczne. Poza tym, badanie to jest atrakcyjne cenowo, koszt jednego testu wynosi ~150 USD. Opierając się na naszych wynikach badań oraz danych pochodzących z piśmiennictwa, uważamy, że zastosowanie paneli genetycznych oferuje bardzo skuteczną diagnozę miopatii i powinny być one priorytetowym testem przed uwzględnieniem sekwencjonowania całego eksomu.

Badanie populacji saudyjskiej, dzięki bliskiemu spokrewnieniu jej członków, daje możliwość ujawniania recesywnych mutacji w genach, które dotychczas związane były tylko z dominującymi chorobami genetycznymi. Takie homozygotyczne mutacje wywołują zwykle odmienny obraz fenotypowy. W artykule opublikowanym w *Genetics in Medicine* (publikacja nr 4) opisałam takie przypadki. Wyodrębniłam wśród nich trzy kategorie: pierwsza grupa włączała recesywne

warianty z fenotypami podobnymi fenotypów dominujących chorób, druga grupa zawierała mutacje recesywne z fenotypami wyraźnie innymi od dominujących chorób a w trzeciej kategorii były przypadki zdrowych ludzi, którzy mieli mutacje typu *nonsense* w genach odpowiedzialnych za dominujące choroby genetyczne. W pierwszej grupie przedstawiłam homozygotyczną mutację skracającą gen *ACTG2* u 16-letniej dziewczynki z ciężką miopatią jelitową. Heterozygotyczni rodzice i rodzeństwo dla tej mutacji zgłaszali nawracające zaparcia, co sugeruje haploinsuficjencję (ang. haploinsufficiency) tego genu jako mechanizm występowania tej choroby. W drugim przypadku, u 24-miesięcznego chłopca przedstawiającego ogólne opóźnienie rozwoju, zaawansowaną hipotonię oraz encefalopatię epileptyczną, zidentyfikowaliśmy nową homozygotyczną mutację typu zmiany sensu (*missense*) w *GABRD*: NM_000815.4:c.875C>T:p.(Thr292Met). Patogenność tej zmiany została potwierdzona przez, ostatnio opisany, współczynnik pLI (ang. *probability of being loss of function-intolerant*), który wynosi dla tego genu 0.92. Podwójny knock-out tego genu u myszy powoduje zwiększenie predyspozycji do epileptycznych drgawek. Do drugiej kategorii zaklasyfikowaliśmy 13,5-letniego chłopca z trudnościami motorycznymi i obustronną deformacją końsko-szpotawą. Sekwencjonowanie eksomu tego pacjenta ujawniło nowy homozygotyczny patogenny wariant: *FBN2* NM_001999.3:c.41T>G:p.(Leu14Arg), nieobecny u dwójki zdrowego rodzeństwa, a rodzice byli heterozygotami dla tej mutacji. Kolejnym przypadkiem w tej kategorii, było spokrewnione małżeństwo (pokrewieństwo pierwszego stopnia), które straciło dwoje dzieci ze względu na śmiertelny fenotyp związany z poważnymi wadami mózgu i uogólnioną osteopetrozą. Ze względu na brak próbek od nieżyjących dzieci, zastosowaliśmy analizę sprzężeń przez wykluczenie (ang. *linkage by exclusion*). Za pomocą tej metody zidentyfikowałam tylko jedną zmianę, była to skracająca mutacja w *CSF1R* (NM_001288705.1:c.1602T>A:p.Tyr540*). Wariant ten był heterozygotyczny u rodziców oraz heterozygotyczny lub typ dziki (ang. *wild type*) u czwórki ich żyjących dzieci. Mutacje heterozygotyczne w *CSF1R* odpowiedzialne są za encefalopatię u dorosłych. W przeciwieństwie do poprzednio opisanych mutacji dominujących, nasza zmiana eliminuje wewnątrzkomórkową część receptora, która zaczyna się od 537 aminokwasu, przez co zmutowana forma nie może wywierać działania dominująco negatywnego i najprawdopodobniej wykazuje haploinsuficjencję. Heterozygotyczni dla tej zmiany rodzice, nie wykazywali oznak choroby. Białko CSF1R działa na zasadzie dimeryzacji zależnej od ligandu oraz

autofosforylacji, dlatego w przypadku heterozygot, ekspresja dzikiego typu na powierzchni komórek powinna być wystarczająca do prawidłowej funkcji białka. Myszy z niedoborem CSF1R również wykazują osteopetrozę, zmiany w mózgu oraz wczesną śmiertelność obserwowaną u dwojga zmarłych dzieci. W ostatniej kategorii przedstawiliśmy niemowlę, które zmarło w wyniku powikłań cholestazy i dysplastycznych nerek bez uzyskania precyzyjnej diagnozy. Sekwencjonowanie eksomu probanda ujawniło homozygotyczną skracającą mutację w *PDE11A*: NM_016953.3:c.1633C>T:p.Arg545*. Ta sama homozygotyczna zmiana występowała u zdrowego brata. Heterozygotyczne warianty typu *missense* w genie *PDE11A* odnotowano również u pacjentów z guzami kory nadnerczy. Nadnercza naszego pacjenta oraz zdrowego rodzeństwa nie wykazywały żadnych strukturalnych ani funkcjonalnych zmian, pomimo prawdopodobnie całkowitej utraty funkcji tego białka. Te obserwacje oraz bardzo niski współczynnik pLI (0,00) a także występowaniem trzech przypadków z homozygotycznymi mutacjami skracającymi *PDE11A* w bazie danych *ExAC* (*ang. the Exome Aggregation Consortium*), sugerują że gen ten może być zbędny dla funkcji kory nadnerczy, a przypadki nowotworu spowodowane były mutacją nabycia funkcji (*ang. gain of function*). Ten sam homozygotyczny wariant został również opisany u pacjenta z nowotworem jądra. Nasze wyniki wskazują, że w dobie sekwencjonowania całego eksomu i „odwrotnego fenotypowania” (*ang. “reverse phenotyping”*), recesywne warianty w dominujących genach nie powinny być ignorowane w diagnostyce molekularnej.

W marcu 2016 r. uruchomiliśmy pierwsze referencyjne laboratorium w Arabii Saudyjskiej, które oferuje testy genetyczne oparte na technologii NGS. Testy te obejmują genetyczne panele oraz sekwencjonowanie całego eksomu (WES). Brałam aktywny udział, najpierw przy walidacji testów NGS, a później w procesie tworzenia laboratorium. W badaniu opublikowanym w *Human Genetics* (publikacja nr 5) przedstawiamy wyniki pierwszych 1013 rodzin, które zostały przebadane przez nasze laboratorium. Jeden z siedmiu oferowanych paneli („neurologiczny”, „dysmorfie/dysplazje szkieletowe”, „nefrologiczny”, „metaboliczny”, „okulistyczny”, „immunologiczny” oraz „gastrologiczny”) użyto u 666 rodzin (645 pojedynczych pacjentów, 16 przypadków „trio” (proband oraz rodzice) i 5 przypadków „duo” (tylko rodzice). U pozostałych 347 rodzin zastosowano WES (321 pojedynczych, 17 „trio”, i 9 „duo”), a u 15 pacjentów z negatywnymi wynikami paneli, przeprowadziliśmy również WES. Przyczynę choroby genetycznej zidentyfikowaliśmy u 27% badanych

za pomocą paneli genetycznych oraz u 43% chorych poddanych badaniom całego eksomu. Najwyższą wydajność diagnostyczną (68%) uzyskaliśmy u pacjentów z wadami wrodzonymi oraz z dysplazjami szkieletowymi (58%). Badania par rodzicielskich, które straciły dzieci prawdopodobnie z powodu genetycznych chorób, również wykazały wysoką (50%) wydajność diagnostyczną, a mutacje znalezione w tej grupie stanowiły 83% naszych wszystkich zidentyfikowanych nowych genów, które do tej pory nie były powiązane z żadnymi chorobami. Na uwagę zasługuje przypadek rodziny z powtarzającą się historią obrzęków płodów oraz z dwójką dzieci, z których jedno zmarło z powodu pęcherzykowego oddzielania się naskórka, a drugie z powodu wrodzonej łamliwości kości. Rodzice tych dzieci byli nosicielami mutacji w genach: *THSD1*, *ITGB4* i *P3H1*. Patogenne autosomalne, recesywnie dziedziczone mutacje stanowiły większość pozytywnych przypadków (235/332, 71%) i prawie zawsze były homozygotyczne (97%). W 27% pozytywnych przypadków zidentyfikowaliśmy autosomalne mutacje typu *de novo* związane z chorobami dziedziczonymi w sposób dominujący, a w 2% były to mutacje w genach sprzężonych z chromosomem X. Stwierdziliśmy 279 mutacji genowych, z których 166 (43%) zostało opisanych przez nas po raz pierwszy. Przypadki z tzw. mutacją założycielską (*ang. founder mutations*) stanowiły 33% wszystkich zmian recesywnych. Zaobserwowaliśmy kilka homozygotycznych, patogennych wariantów w genach (np. *ITPR1*) związanych z dominującymi chorobami genetycznymi. Zdrowi rodzice tych pacjentów byli heterozygotami dla tych wariantów. Diagnoza molekularna identyfikująca więcej niż jedną chorobę genetyczną u tego samego pacjenta stanowiła jedynie 1,5% próbek, w których zsekwencjonowaliśmy cały eksom. W dziewięciu genach, które zostały wcześniej opublikowane jako te, które mogą być powiązane z wadami genetycznymi, stwierdziliśmy chorobowe mutacje, co potwierdza udział tych genów w chorobach. Ponadto w 75 nowych genach, które do tej pory nie zostały jeszcze powiązane ze schorzeniami genetycznymi, zidentyfikowaliśmy patogenne warianty. Na podstawie molekularnej diagnozy, u kilku pacjentów wdrożono istotne zmiany w leczeniu, np. u dziecka z chorobą syropu klonowego (*ang. maple syrup urine disease, MSUD*), u którego badania przesiewowe noworodków nie wykryły tej metabolicznej choroby. Badania genetyczne w saudyjskiej populacji przyczyniły się znacząco do identyfikacji mutacji genetycznych, szczególnie w dziedzinie chorób recesywnych. Nasze laboratorium diagnostyki molekularnej jest jedynym referencyjnym ośrodkiem w Arabii Saudyjskiej, który

wykonuje diagnostykę molekularną w oparciu o testy NGS. W związku z tym otrzymujemy próbki pacjentów referowanych ze wszystkich sektorów opieki zdrowotnej (prywatne szpitale i kliniki oraz państwowe ośrodki opieki zdrowotnej). Daje nam to możliwość badania szerokiego spektrum chorób genetycznych.

W ostatnim artykule mojego osiągnięcia habilitacyjnego, opublikowanym w *Human Genomics* (publikacja nr 6), opisuję genetyczną oraz kliniczną charakterystykę nowego zespołu dystonii mięśniowej, która w badanej rodzinie dziedziczona jest w sposób recesywny. Pierwsze objawy choroby pojawiły się w młodym wieku (w 7-8 roku życia), jest to dystonia ze spastycznością oraz zmianami białej substancji mózgu. U chorych członków tej rodziny występuje zróżnicowanie fenotypowe obejmujące różne formy dystonii ogniskowej i odcinkowej, a także nierytmiczne, asymetryczne i uogólnione drżenie głowy, szyi oraz kończyn. Chorzy są pacjentami naszego szpitala od 24 lat i dotychczas nie udało się uzyskać precyzyjnej diagnozy. Na podstawie analizy sprzężeń, ustaliliśmy haplotyp sprzężony z chorobą, o wielkości 2.1 Mb (*ang. Megabases*) i LOD=4.58 na chromosomie 17. Sekwencjonowanie całego eksomu zidentyfikowało zmianę G>A, w wariancie 2 transkryptu genu *CAMTA2*. Zmiana obejmuje szóstą zasadę DNA przed kodonem startowym (c.-6G > A, NM_001171166.1). W celu zbadania wpływu tej zmiany w DNA, zaprojektowałam gen reporterowy, który następnie sklonowany z fragmentem DNA zawierającym naszą zmianę, w wektor ekspresyjny użyłam do zatransfekowania komórek HEK293. Jako kontrolę użyty był wektor, który zawierał dziki typ sekwencji. Porównanie fluorescencji obu typów komórek, z mutacją oraz dziki typ, wykazało w pierwszym przypadku znaczne obniżenie ekspresji białka reporterowego przy jednoczesnym braku zmiany poziomu mRNA, co świadczy o wpływie naszej mutacji na translację. Badania te pozwoliły na zidentyfikowanie nowego *locus* w dystonii (*CAMTA2*) i otworzyły nową przestrzeń badawczą związaną z rolą *CAMTA2* we wzroście, różnicowaniu, przeżyciu i funkcji komórek, a także mechanizmów komórkowych w mózgu w odniesieniu do zaburzeń ruchowych. Podkreślają one również wartość badania rzadkich chorób dziedzicznych w poszerzaniu wiedzy na temat bardziej powszechnych stanów chorobowych, takich jak dystonia czy drżenie.

Podsumowanie i wnioski:

Dane przedstawione w moim osiągnięciu habilitacyjnym podkreślają znaczenie badań genetyki molekularnej w diagnostyce i klasyfikacji rzadkich

zaburzeń. Precyzyjna diagnostyka genetyczna nie wymaga już *a priori* szczegółowej oceny klinicznej pacjenta przez lekarza prowadzącego. Zdolność badania całego genomu człowieka lub dużej jego części przy użyciu technik NGS stanowi rewolucyjną zmianę w diagnostyce pacjentów. Poza wysoką wydajnością diagnostyczną, metoda ta znacząco poszerza wiedzę na temat fenotypowej i genetycznej różnorodności wielu chorób, włączając nietypowe prezentacje opisanych wcześniej schorzeń. W swoich badaniach udowodniłam, że zastosowanie paneli genowych jest czułą, szybką i niedrogą metodą, która znacząco wspomaga praktykę kliniczną, zwłaszcza w fenotypowo i genetycznie heterogenicznych chorobach, takich jak wrodzone zaburzenia biegunkowe, dystrofie i miopatie mięśniowe oraz inne neurologiczne schorzenia. Sekwencjonowanie całego eksomu powinno być zarezerwowane dla odkrywania nowych genów, gdy panele genowe nie są w stanie wykryć zmian. Analiza molekularna poprzez klonowanie pozycyjne (*ang. positional cloning*) oraz sekwencjonowanie całego eksomu pozwoliła postawić definitywną diagnozę w rodzinie z drżeniem i dystonią, po 24 lat poszukiwań ich przyczyny oraz zidentyfikować *CAMTA2* jako nowy *locus* dla dystonii mięśniowych. Opisałam również pierwsze przykłady autosomalnego recesywnego dziedziczenia mutacji w genach, które do tej pory znane były tylko dla chorób dominujących. Ponadto, zastosowane przez mnie wytyczne *American College of Molecular Genetics (ACMG)* oraz *Association for Molecular Pathology (AMP)* w klasyfikacji patogennych wariantów, zapewnia przejrzystość w interpretacji wyników NGS. Opisana przeze mnie kohorta i badania z wykorzystaniem sekwencjonowania całego eksomu jako klinicznego testu diagnostycznego stanowiła największą przebadaną grupę pacjentów z chorobami genetycznymi pochodzenia arabskiego. Badania te wzbogaciły światową bazę wariantów genetycznych o 166 nowych mutacji chorobowych oraz zidentyfikowały 75 nowych genów, co bezsprzecznie wpływa na poprawę wydajności diagnostycznej u pacjentów z rzadkimi chorobami genetycznymi.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

a) Analiza bibliometryczna dorobku:

Sumaryczny IF opublikowanych prac: **286,320** (w tym **24,558** zgłoszonych jako osiągnięcie)

Sumaryczna punktacja opublikowanych prac wg listy MNiSW: **1522** (w tym **195** zgłoszonych jako osiągnięcie)

Łączna liczba cytowań (wg Web of Science): **758**

Indeks-H (wg Web of Science): **14**

Łączna liczba publikacji naukowych (umieszczonych i nie umieszczonych na liście JCR): **55**

Doniesienia konferencyjne (komunikaty naukowe): **19**

- b) **Lista publikacji nie wchodzących w skład osiągnięcia** w rozumieniu z art.16 ust.2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz.595 z późn. zm.) umieszczona została w odrębnym załączniku nr 4.

6. Udział w projektach badawczych:

W trakcie dotychczasowej pracy naukowej uczestniczyłam lub nadal uczestniczę w realizacji następujących projektów i grantów badawczych:

2017- w trakcie: Establishment and evaluation of a Flash Exome protocol for diagnosis of disease in critically ill neonates (RAC#2170028). **Kierownik projektu**

2016 – w trakcie: Characterization of the Clinical and Molecular Basis of Hereditary Bleeding Disorder (RAC#2160026). **Wykonawca projektu**

2016 – w trakcie: Metabolic and Molecular Profiling in Patients with Inborn Errors of Metabolism (RAC#2160027). **Wykonawca projektu**

2015- w trakcie: Use of Cell Free Fetal DNA (CFFD) for Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Inherited Disease Aneuploidies (KACST#10-Med1361-20). **Wykonawca grantu**

2014 – w trakcie: Autozygome Sequencing for High Throughput of Genes with Biallelic Inactivation in Healthy Humans: Understanding Genetic Influence on Human Phenotypic Variation (The Human Knockout Project) (RAC#20140016). **Wykonawca projektu**

2014-2017: Genetic Basis of Mental Retardation (KACST#08-MED499-20). **Główny wykonawca grantu**

2014-2016: Genetic Findings of Hereditary Spastic Paraplegia in Saudi Arabia (KACST#12-BIO2943-20). **Wykonawca grantu**

2014-2017: The Molecular Basis of ADHD in Saudi Arabia (NCPST/KACST312-BIO2346-20). **Główny wykonawca grantu**

2013-2016: The Pathology and Genetics of Limb-Girdle Muscular Dystrophy in Saudi Arabia (KACST#2070 005). **Wykonawca grantu**

2010-2012: Replication for Genetic Association Studies on Birth Weight and Gestational Age (RAC#2100007). **Wykonawca projektu**

6.1 Inne kierunki prowadzenia badań.

6.1.1 Saudyjski Projekt Genomu Człowieka (*ang. Saudi Human Genome Program*).

Brałam aktywny udział w saudyjskiej wersji projektu ludzkiego genomu. Jest to program obejmujący całą Arabię Saudyjską, który ma na celu skatalogowanie wszystkich chorób genetycznych obecnych w tej populacji. Dane te będą stanowiły w przyszłości bazę naukową do wykorzystania w personalizowanej medycynie (*ang. personalized medicine*). Populacja saudyjska ma wysoki odsetek chorób genetycznych ze względu na tradycję występowania spokrewnionych małżeństw (kuzyni w pierwszym stopniu pokrewieństwa). Szacuje się, że ok. 8% urodzonych dzieci ma wady genetyczne, co wymaga wysokich nakładów finansowych państwowej opieki medycznej do leczenia tych pacjentów. Misją tego projektu jest stworzenie bazy danych mutacji genetycznych charakterystycznych dla tej populacji oraz zbudowanie infrastruktury laboratoryjnej, która będzie wykorzystana do diagnostyki chorób genetycznych. Na podstawie tej wiedzy, planujemy opracować program przedmałżeńskiego badania par, w kierunku wykrywania nosicielstwa mutacji chorobowych. Opracowaliśmy test diagnostyczny, zwany Mendeliome, który obejmuje blisko 3000 genów odpowiedzialnych za wszystkie dotychczas opisane choroby mendelowskie. Mendeliome składa się z 13 paneli genowych i pokrywa szeroki zakres schorzeń genetycznych występujących u dzieci i dorosłych.

Przetestowaliśmy ponad 2300 pacjentów, a wyniki naszych badań opublikowaliśmy w *Genome Biology* (IF=11,908). Zastosowanie paneli genowych wykazało znacznie wyższą (45%) czułość diagnostyczną w porównaniu do czułości diagnostycznej badań (25%), przy użyciu sekwencjonowania całego eksomu. W oparciu o naszą własną bazę danych wykazaliśmy, że 342 warianty obecne w bazie HGMD (Human Genome Mutation Database) stanowią polimorficzne zmiany charakterystyczne dla populacji pochodzenia arabskiego (częstość allelu >1%). Ponadto koszt naszego testu jest znacznie niższy i wynosi 75-150 USD, w zależności od użytego panelu. Wykazaliśmy, że „Mendeliome” charakteryzuje się wysoką wykrywalnością nie tylko homozygotycznych, ale również heterozygotycznych mutacji. W naszej kohorcie zidentyfikowaliśmy 24% wariantów odpowiedzialnych za choroby autosomalne dominujące oraz 4% przypadków chorób sprzężonych z chromosomem X. Oznacza to, że nasze panele mogą mieć zastosowanie w każdej ludzkiej populacji.

Przydatność diagnostyczną „Mendeliomu” zbadaliśmy również w kohorcie 261 pacjentów z chorobami zaburzeń odporności (*ang. primary immunodeficiency diseases – PIDs*). Nasz PID panel, który zawiera 162 geny zidentyfikował patogenne warianty u 96% pacjentów ze znaną mutacją (pozytywna grupa kontrolna) oraz u 28% niezdiagnozowanych wcześniej przypadków z atypowym obrazem klinicznym. Diagnostyczna czułość testu w całej badanej grupie wyniosła 58%. Wyniki tych badań opublikowaliśmy w *Journal of Allergy and Clinical Immunology* (IF=13,081).

6.1.2 Nowe geny i zróżnicowanie fenotypowe w neurologicznych chorobach o podłożu genetycznym.

Jeden z podjętych przeze mnie tematów badawczych dotyczył ważnego zagadnienia diagnostyki genetycznej w zaburzeniach neurologicznych. Wciąż pozostaje wiele genów do odkrycia związanych z tymi chorobami. Jednym z głównych wyzwań w diagnozowaniu neurologicznych pacjentów jest zmienność fenotypowa, która obejmuje szeroki zakres objawów klinicznych w obrębie tej samej choroby (*ang. phenotypic heterogeneity*). W naszym artykule opublikowanym w *Cell Reports* (IF = 8,282) przebadaliśmy 143 rodziny z zaburzeniami neurologicznymi, w których rodzice byli ze sobą spokrewnieni i mieli co najmniej dwoje chorych dzieci. Za pomocą genetycznej analizy sprzężeń i homozygotycznego mapowania (*ang. homozygosity mapping*) wykluczaliśmy obecność mutacji w znanych neurologicznych

genach. Sekwencjonowanie całego eksomu zidentyfikowało 69 nowych genów, z których 33 zostało opisanych po raz pierwszy przez nas w tym artykule. Przedstawiliśmy również przypadki z mutacjami w genach, których prezentacja kliniczna znacząco różniła się od typowych objawów chorób wcześniej związanych z tymi genami. Udało nam się uzyskać molekularną diagnozę u 73% badanych rodzin. Badania te przyczyniły się do poszerzenia wiedzy na temat genów odpowiedzialnych za zaburzenia neurologiczne. W kolejnym artykule opublikowanym w *Human Genetics* (IF = 4,637) przedstawiliśmy fenotypową i genetyczną charakterystykę 68 rodzin (105 pacjentów) z niepełnosprawnością intelektualną (*ang. intellectual disability, ID*). We wszystkich przypadkach zidentyfikowaliśmy nową mutację w znanych genach odpowiedzialnych za te schorzenia, a w 4 rodzinach znaleźliśmy patogenne warianty w niedawno opisanych genach z pojedynczymi mutacjami u pacjentów z ID. Znaleźliśmy również mutacje w 14 nowych genach, nie związanych do tej pory z żadnymi chorobami. W kolejnej grupie 337 pacjentów z ID oceniliśmy diagnostyczną wydajność trzech różnych testów: kariotypowanie molekularne, panele genowe i sekwencjonowanie całego eksomu. Na podstawie standardowej oceny klinicznej pacjentów zdiagnozowano 16% przypadków (54/337) z ID, ale tylko u 70% z nich (38/54) diagnoza została potwierdzona. Molekularne testy natomiast zdiagnozowały 58% (n=196) pacjentów, 14% za pomocą kariotypowania oraz 43% przy użyciu paneli genowych i WES (u 1% chorych stwierdzono zespół łamliwego chromosomu X). U większości (81%) pacjentów zidentyfikowane mutacje były recesywne, 13% stanowiły zmiany *de novo*, a 8,6% przypadków miało mutacje sprzężone z chromosomem X. U chorych z negatywnym wynikiem kariotypowania, wydajność diagnostyczna WES wyniosła 60% (77/129). Nasze rezultaty wskazały, że testy molekularne charakteryzują się najwyższą wydajnością diagnostyczną u pacjentów z niesprawnością intelektualną.

6.1.3. Diagnostyka molekularna chorób rozrodczych.

Poza badaniami podłoża genetycznego chorób neurologicznych, które stanowią główny obszar moich zainteresowań, zajmowałam się również poszukiwaniem mutacji w schorzeniach układu rozrodczego, takich jak izolowany wrodzony niedobór gonadoliberyny (*ang. isolated gonadotropin-releasing hormone deficiency, IGD*) oraz zespół Kallmana (*ang. Kallman syndrome, KS*). Badania te, odbyły się w ramach

międzynarodowej współpracy z Reproductive Endocrine Sciences Center, Harvard Medical School, USA. Przebadaliśmy 219 chorych z KS w celu ustalenia, czy i jakie mutacje genowe odpowiedzialne są za określone cechy fenotypowe w tych schorzeniach. Okazało się, że mężczyźni z mutacjami w *KALI* prezentowali najcięższą postać choroby, podczas gdy synkineza była zwiększona zarówno u mężczyzn jak i kobiet bez względu na to, czy mutacja występowała w *KALI* czy w innych genach związanych z tymi chorobami. Agenezja uzębienia i zaburzenia kości były obserwowane w grupie pacjentów ze zmianami w genach *FGF8* i *FGFR*, a utratę słuchu miały osoby z mutacjami w *CHD7*. Choroby nerek i rozszczepienie wargi/podniebienia nie były zależne od rodzaju zmutowanego genu. Wyniki tych badań opublikowaliśmy w *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* (IF = 5,455). Inną grupę pacjentów (n=783) z IGD, poddaliśmy sekwencjonowaniu w celu identyfikacji wariantów w genie *CHD7*, który powiązany jest za zespołem CHARGE. Nasze badania stanowiły pierwszy eksperymentalny dowód na to, że mutacje w *CHD7* odpowiedzialne są za obie formy IGD, z utratą węchu oraz z normalnym węchem. Pracę tę opublikowaliśmy w *The Proceedings of National Academy of Sciences* (IF = 10.4).

7. Nagrody i wyróżnienia:

- 2018:** Nagroda w kategorii „Najlepsze Publikacje”, King Faisal Specialist Hospital and Research Center, publikacja z IF= 4,637
- 2017:** Nagroda w kategorii „Najlepsze Publikacje”, King Faisal Specialist Hospital and Research Center, publikacja z IF= 8,229
- 2016:** Nagroda w kategorii „Najlepsze Publikacje”, King Faisal Specialist Hospital and Research Center, publikacja z IF= 6,918

8. Działalność dydaktyczna:

W czasie mojej pracy w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie prowadziłam zajęcia i seminaria dla studentów piątego roku medycyny i stomatologii w ramach kursu genetyki sądowej. W latach 1998-2000 sprawowałam opiekę naukową nad dwoma magistrantami realizującymi badania w naszej Katedrze. Od kiedy rozpoczęłam pracę w Departamencie Genetyki w KFSHRC w Rijadzie, każdego roku szkolę ok. 20 studentów i młodych badaczy w dziedzinie sekwencjonowania DNA i jego zastosowania do poszukiwania mutacji genetycznych. Jestem odpowiedzialna również za szkolenia dotyczące sekwencjonowania następnej

generacji (NGS) w naszym referencyjnym laboratorium NGS. Takie szkolenie odbywają wszystkie zespoły z tzw. laboratoriów satelitarnych, które są włączone w narodowy projekt sekwencjonowania genomu człowieka (Saudi Human Genome Project) w Arabii Saudyjskiej. Prowadzę także seminaria, dotyczące bioinformatycznej analizy wyników NGS, dla lekarzy zlecających takie badania. Wielokrotnie uczestniczyłam w programach (np. Al-Razi, Future Scientist, Iben Sena) popularyzacji nauki w Arabii Saudyjskiej, pozwalających na wykonanie małych projektów badawczych, przez wyróżnionych uczniów szkół średnich i studentów w laboratorium pod opieką naukowców.

9. Certyfikaty i szkolenia:

W trakcie swojej działalności naukowej brałam udział w wielu szkoleniach i warsztatach w dziedzinie technik DNA i ich przydatności w badaniach dla potrzeb wymiaru sprawiedliwości (badanie śladów kryminalnych i ustalanie spornego ojcostwa) oraz genetyki klinicznej. W czasie pracy w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, byłam biegłym przysięgłym i uczestniczyłam w rozprawach sądowych jako ekspert badań DNA. Wielokrotnie przystępowałam do testów weryfikujących wiedzę i umiejętności dotyczące badania DNA śladów biologicznych organizowanych przez polskie oraz międzynarodowe organizacje medycyny sądowej i kryminologii i za każdym razem przechodziłam te testy pomyślnie. Poniżej lista najbardziej istotnych certyfikatów:

- 1998-2003: Stain Commission of the German Society for Legal Medicine, (GEDNAP), międzynarodowy certyfikat biegłości w badaniu DNA.
- 01.05-15.05.1997: Laboratorium badania śladów biologicznych, Zakład Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk.
- 1999: Polskie Towarzystwo Medycyny Sądowej i Kryminologii, certyfikat biegłości w badaniach DNA.
- 01.07-15.08.1999: PCR-Based Methods in Forensic DNA Technology School, FBI Academy, Quantico, USA (pobył szkoleniowy)
- 2000: DNA sequencing workshop ALFExpress II, Szwecja
- 2001: Y-STR Haplotyping Quality Assurance Exercise, Niemcy
- 2001: The Second European-American Course in Forensic Genetics, Chorwacja

- 2007: Agencourt Bioscience Facility, USA (kurs w laboratorium szkoleniowym)
- 2013: Warsztaty dotyczące zastosowania nowej platformy „Ion Torrent PGM and Proton” do sekwencjonowania NGS, Arabia Saudyjska

10. Współpraca międzynarodowa

Genetic heterogeneity of Polish paternal lineages by Y chromosome haplotype analysis, 2000-2002

Był to projekt w ramach międzynarodowej grupy badaczy chromosomu Y. Przy użyciu markerów STR obecnych na chromosomie Y, przebadano populacje z różnych regionów Polski w celu analizy genetycznych powiązań z innymi populacjami europejskimi i stworzenia bazy danych dla badań antropologicznych i kryminalistycznych. Uzyskane wyniki badań były zgodne z założeniem jednorodności populacji polskiej i jej odrębności w odniesieniu do populacji z innych części Europy. Nasze rezultaty opublikowaliśmy w *Human Genetics*, 2002 (IF = 3,429).

Genetic Association Studies Using the Saudi Newborn Screening Program, 2011-2013

Projekt odbył się w ramach “*European Early Growth Genetics Consortium*”. Celem badań była analiza mutacji w genach, odpowiedzialnych za wagę urodzeniową w innych populacjach, u noworodków pochodzenia arabskiego. Badania obejmowały siedem *loci*, z których pięć odpowiedzialnych jest za występowanie innych fenotypów człowieka: *ADCY5* i *CDKALI* (odpowiedzialne za cukrzycę typu 2), *ADRB1* (związane z chorobami wysokiego ciśnienia krwi) oraz *HMGGA2* i *LCORL* (geny powiązane ze wzrostem). Nasze badania wykazały genetyczne powiązania pomiędzy rozwojem płodu w łonie matki oraz jego późniejszym, wzrostem i rozwojem w okresie poporodowym. Wyniki tych badań opublikowaliśmy w *Nature Genetics*, 2013 (IF=29,648)

The Molecular Basis of Inherited Productivity Disorders, Massachusetts General Hospital, Boston, USA, 2014-2017

W ramach tej współpracy badaliśmy genetykę chorób układu rozrodczego. Szczegóły tych badań oraz ich rezultaty przedstawione są powyżej w pkt. 6.1.3.

11. Recenzje publikacji w czasopismach międzynarodowych:

Gene Reviews (NCBI Bookshelf) – 1 publikacja

3 Biotech (IF=1,361) – 3 publikacje.

Donata Monu's