



Zakład Botaniki Ogólnej
Instytut Biologii Eksperymentalnej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
61-614 Poznań, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6, tel. 61 829-5611

Dr hab. prof. UAM Magdalena Krzesłowska
Zakład Botaniki Ogólnej
Wydział Biologii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Ul. Uniwersytetu Poznańskiego 6
61-614 Poznań
magdalena.krzeslowska@amu.edu.pl

Poznań, dn. 10.02. 2026 r.

Recenzja Rozprawy Doktorskiej pani mgr Karoliny Moniki Majewskiej pt. "Dynamika składu molekularnego ciał Cajala jako centrów regulacyjnych retencji mRNA"

Rozprawa Doktorska została wykonana w Katedrze Biologii Komórkowej i Molekularnej, Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu. Promotorem rozprawy był dr hab. Dariusz Jan Smoliński prof. UMK, a promotorem pomocniczym dr Agnieszka Kołowerzo-Lubnau.

Tematyka przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej jest kontynuacją problematyki badawczej zespołu kierowanego przez pana dr hab. prof. UMK Dariusza Smolińskiego i dotyczy retencji na terenie jądra komórkowego dojrzałego mRNA, jak i pre-mRNA. Mechanizm ten, polega na zatrzymaniu eksportu transkryptów z jądra do cytoplazmy i tym samym opóźnieniu, czy raczej korelacji syntezy odpowiednich białek, dla których transkrypty te stanowią matrycę, z aktualnymi potrzebami metabolicznymi komórki, jej cyklem rozwojowym, czy odpowiedzią na oddziaływanie czynników stresowych. Warto podkreślić, że część wcześniej otrzymanych wyników zespołu, m.in. w trakcie realizacji doktoratu pani dr Magdy Rudzkiej, została opublikowana w *The Plant Cell* 2022: 34: 2404–2423 - czasopiśmie którego aktualny IF=11.6. Współautorką tej pracy, jest również pani Karolina Monika Majewska.

W niniejszej rozprawie Doktorantka, pani mgr Karolina Monika Majewska, podjęła się weryfikacji nowatorskiej hipotezy badawczej, która zakłada, że dynamiczne, nieobłonione kondensaty subjadrowe, jakimi są Ciała Cajala (CB), pełnią kluczową rolę w mechanizmie globalnej retencji poliadenylowanego mRNA (poliA) RNA.

Warto podkreślić, że badania zawarte w niniejszej rozprawie zostały wykonane dzięki finansowaniu z:

- (1) Narodowego Centrum Nauki (NCN) - grant Preludium 21 2022/45/N/NZ3/02015, przyznany dla autorki rozprawy,
- (2) grantu NCN Sonata 11 2016/21/D/NZ3/00369, w którym Doktorantka była wykonawcą,
- (3) grantu Uniwersytetu Mikołaja Kopernika (Program „Inicjatywa doskonałości – uczelnia badawcza” –finansowanie przyznane dla Doktorantki w roku 2022.
- (4) Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych AST -finansowanie przyznane dla Doktorantki w latach 2021, 2022, 2023 oraz 2025.

Ocena formalna rozprawy

Przedstawiona do oceny praca liczy 205 stron i ma typowy dla rozprawy doktorskiej, prezentowanej w postaci monografii, układ rozdziałów: spis treści, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki wraz z tablicami, tabelami i schematami, dyskusja, podsumowanie, literatura. Rozprawa zawiera także wykaz rycin i tabel oraz suplementy.

Wstęp liczy 37 stron i jest przeglądem literatury związanej z zagadnieniami podjętymi w pracy. Rozdział ten jest stosunkowo obszerny, bardzo dobrze napisany od strony merytorycznej, jak i stylistycznej i pokazuje znajomość literatury przedmiotu Doktorantki. Zawiera, m.in. podrozdziały omawiające (1) jądro komórkowe, (2) biomolekularne kondensaty, czyli nieobłonione organelle (*ang. Membraneless organelle* MLO) występujące w jądrze, ze szczególnym uwzględnieniem Ciał Cajala. Przedstawiono ich strukturę, omówiono składniki budujące - w tym białko markerowe jakim jest koilina, sposoby powstawania oraz już odkryte funkcje, tj.: udział w biogenezie i składaniu U sn RNP (również markera tych struktur), biogenezie i akumulacji małych RNA, a także siRNA i miRNA, utrzymaniu długości telomerów oraz w odpowiedzi komórki na biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe. W ostatniej części tego rozdziału scharakteryzowano regulację ekspresji genów w komórkach eukariotycznych. Szczególną uwagę poświęcono jądrowej retencji transkryptów i temu co wiadomo o udziale CB w tym procesie. Warto podkreślić, że Wstęp jest także ilustrowany licznymi schematami. Jako osobny rozdział wyodrębniono Cel Pracy. W rozdziale tym przedstawiono wspomnianą wcześniej hipotezę badawczą oraz 3 główne zadania badawcze, które miały na celu weryfikację postawionej hipotezy:

1. Przeprowadzenie kompleksowej analizy transkryptomu mikrosporocytów *Larix decidua* Mill. w celu identyfikacji transkryptów wykazujących retencję intronów oraz opracowanie dedykowanej bazy danych gromadzącej szczegółowe informacje o zidentyfikowanych transkryptach.
2. Weryfikację oraz walidację wyników analizy bioinformatycznej za pomocą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) w celu potwierdzenia obecności i określenia przestrzennej lokalizacji wyselekcjonowanych transkryptów.
3. Analizę dynamiki składu molekularnego ciał Cajala zaangażowanych w retencję intronów, przeprowadzona z wykorzystaniem immunofluorescencji, na poszczególnych etapach cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA.

Jako materiał do badań wykorzystano mikrosporocyty modrzewia *Larix decidua* (Mill.), czyli komórki macierzyste mikrospor, a konkretnie izolowane, protoplasty mikrosporocytów.

Bez wątpienia, jeśli chodzi o metodykę pracy na podkreślenie zasługuje różnorodność technik badawczych zastosowanych przez Doktorantkę. Rozmieszczenie mRNA i pre-mRNA pokazano stosując fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* (FISH), metodę, której ogromną zaletą jest precyzyjne obrazowanie, w obrębie komórki i jej kompartmentów, występowania i rozmieszczenia, np. mRNA badanych białek, technikę immunolokalizacji białek, qPCR, elektroforezę kapilarną oraz sekwencjonowanie. W badaniach zastosowano mikroskopię konfokalną oraz mikroskopię wysokorozdzielczą STED. Co więcej, aby pokazać, czy proces retencji różnych mRNA kodujących białka Sm przebiega w komórkach w taki sam sposób, opracowano technikę, która pozwoliła na lokalizację dwóch sond znakowanych digoksygeniną skierowanych do dwóch różnych mRNA - multi-indirect FISH. Warto podkreślić, że jest dobry, szczegółowy opis stosowanych w pracy technik, co pozwoli na ewentualne powtórzenie doświadczeń w przyszłości oraz wyszczególnienie wszystkich primerów, sond, przeciwciał i innych odczynników wraz z podaniem firm, w których je skonstruowano lub z których pochodzą.

Wyniki uzyskane w pracy są dobrze i jasno przedstawione. Przejrzystość pracy zwiększają także krótkie wprowadzenia do rozdziałów oraz zamieszczone tam wyjaśnienia - dlatego podjęto się przeprowadzenia danych doświadczeń. Zabieg ten pokazuje, że kolejne eksperymenty wynikały z rezultatów uzyskanych wcześniej, i że całość pracy tworzy logiczną, spójną, przemyślaną całość. Na podkreślenie zasługuje też zamieszczenie krótkich podsumowań najważniejszych wyników, które Doktorantka zamieszcza po każdym podrozdziale, a które zwiększają przystępność treści pracy dla czytelnika.

W pierwszym etapie badań Doktorantka przedstawia ramy czasowe oraz cechy charakterystyczne kolejnych stadiów cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA, który w mikrosporocytach modrzewia ma charakter pulsacyjny. Występują okresy intensywnej transkrypcji (nagromadzenie polimerazy RNA II w jądrze), obejmującej głównie stadium 1, trwające ok 8-9 dni, rozdzielone okresem spadku transkrypcji w stadium 2 i 3, trwające 24h, z najniższą aktywnością transkrypcyjną w stadium 4 i 5, którą Doktorantka nazywa „ciszą transkrypcyjną”, trwającą 24h (brak polimerazy RNA II w jądrze).

W kolejnym rozdziale Doktorantka przedstawia dwa główne wzorce syntezy i eksportu mRNA badanych białek (rozdział 5.2.) w wyżej przedstawionym cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA. Chciałabym w tym miejscu wspomnieć o pięknej dokumentacji otrzymanych wyników ilustrującej zmiany w komórkach mikrosporocytów. Na podkreślenie zasługuje również zamieszczenie w jednej tablicy ilustracyjnej nie tylko obrazów wzorców syntezy i eksportu mRNA poszczególnych badanych białek, ale również obrazów znakowania poli(A)RNA całościowego, znakowanie jądra (chromatyny jądrowej) DAPI, nałożenie obrazów mRNA badanego białka, np. aktyny, oraz poli(A)RNA i chromatyny jądrowej oraz znakowanie CB. Jest to świetnym zabiegiem, który powtarza się w dokumentacji wszystkich kolejnych wyników i pozwala czytelnikowi łatwo zorientować się w całości zmian zachodzących w jądrze i cytoplazmie mikrosporocytów modrzewia, które Doktorantka omawia w danym akapicie. Piękne są też zdjęcia obrazujące obecność na terenie cytoplazmy białka SERRATE w 5 stadium cyklu poli(A) RNA. Przykład ten jasno pokazuje, że po wyeksportowaniu danego mRNA z jądra do cytoplazmy, jest ono zaraz wykorzystywane do syntezy określonego białka.

Doktorantka oprócz dwóch głównych wzorców syntezy i eksportu mRNA, przedstawiła także wzorzec alternatywny, jak w przypadku mRNA białka SDH. Pokazuje to złożoność wzorców syntezy mRNA i eksportu różnych białek i jak słusznie zauważa Doktorantka - możliwość precyzyjnej adaptacji systemu do zapotrzebowania komórki na specyficzne białko w odpowiednim czasie.

W nawiązaniu do tego wniosku, chciałabym zapytać - jak Doktorantka sądzi, czy wzorzec syntezy i eksportu mRNA danego białka, np. aktyny, może się zmienić wraz ze zmianą zapotrzebowania komórki na to białko, czy wzorzec syntezy i eksportu mRNA danego białka jest stały?

Ważnym też wynikiem było pokazanie, że retencja różnych form niedojrzałego mRNA białek Sm zachodzi w tym samym czasie, a miejscem ich retencji w jądrze są głównie CB. Wykorzystano w tych badaniach nową technikę - multi-indirect FISH. Jej zastosowanie umożliwiło jednoczesne pokazanie dwóch rodzajów retencyjnego mRNA, które kodują białka Sm. Wynik ten potwierdzono badaniami profili intensywności fluorescencji dla różnych form mRNA białek Sm.

Następnym etapem badań składających się na niniejszą rozprawę była analiza transkryptomu mikrosporocytów modrzewia, w której ustalono występowanie zawierających introny retencyjne pre mRNA, które kodują białka takie jak: RS2Z32, THOC4, hnRNP Q-like oraz RBM39. Określano miejsca retencji tych transkryptów i wykazano, że pre mRNA nie wszystkich badanych białek były zatrzymywane w CB. Pre mRNA białka THOC4 zlokalizowane było tylko na terenie nukleoplazmy. Pre mRNA białka RBM39 występowało w CB tylko we wczesnym stadium i później już tylko w nukleoplazmie. W CB retencji ulegały: pre mRNA białka RS2Z32 i w pierwszych stadiach cyklu pre mRNA białka hnRNP Q-like.

Chciałabym zapytać, jak Doktorantka tłumaczy fakt, że mimo obecności intronów retencyjnych nie wszystkie z badanych białek są zatrzymywane na terenie CB. Częściowo Doktorantka wyjaśnia to w

dyskusji, omawiając różne mechanizmy odpowiadające za kierowanie transkryptów do CB, ale poprosiłabym w tym miejscu o dodatkowy komentarz.

Co istotne dla każdego z badanych pre-mRNA obserwowano stopniowy spadek ich poziomu w jądrze pod koniec cyklu poli(A)RNA, aż do ostatniego stadium, gdzie często sygnał zanikał. Wynik ten sugeruje, jak napisała Doktorantka, że transkrypty te mogą przechodzić dodatkową, obróbkę prowadzącą do usunięcia retencyjnego intronu i wytworzenia dojrzałego mRNA, podobnie jak ma to miejsce w przypadku pre-mRNA białek Sm, a proces ten przebiega z różną szybkością w zależności od wzorca ekspresji poszczególnych transkryptów.

Sprawdzono to w kolejnym zadaniu badawczym, w którym poszukiwano dojrzałych mRNA kodujących badane białka. Stosując reakcję FISH potwierdzono występowanie dojrzałych mRNA dla białka RBM39. Widać dobrze ich lokalizację w jądrze (w CB i nukleolazmie) od wczesnego stadium 1 do stadium 3.

Doktorantka wielokrotnie wspomina, jak również ilustruje to większość wyników zamieszczonych w pracy i wynika to z danych literaturowych, że CB są miejscami retencji pre mRNA, zawierających introny retencyjne, kodujących różne białka. Jednak w przypadku białka RBM39 mamy dojrzałe mRNA w CB (ryc. 32), a pre mRNA prawie nie występuje w CB (z wyjątkiem wczesnego stadium 1), tylko w nukleoplazmie (ryc. 30). Jak Doktorantka skomentuje ten fakt?

Identyfikacja dojrzałego mRNA w reakcji FISH pozostałych badanych białek się nie powiodła. Rozwiązano ten problem dzięki zastosowaniu innych technik, jak: qPCR, elektroforezę kapilarną oraz sekwencjonowanie, którymi potwierdzono obecność dojrzałych form mRNA pozostałych badanych białek w komórkach mikroporytów modrzewia. Co ciekawe, nie potwierdzono tymi metodami obecności mRNA białka RBM39, które pokazano w reakcji FISH. Co ważne, Doktorantka w Dyskusji podaje możliwe przyczyny tych problemów.

Kolejnym krokiem było zbadanie składu CB i jego zmian w cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA - przede wszystkim etapów powstawania kompleksów U snRNP oraz zaangażowania CB w poszczególne etapy tego procesu. Pokazano syntezę snRNA oraz rozmieszczenie białek Sm rdzeniowego komponentu kompleksu U snRNP warunkujących powrót snRNA z cytoplazmy do jądra komórkowego. Zamieszczone obrazy pokazują obecność białek Sm w CB do stadium 3 cyklu poli(A)RNA. W stadium 4 i 5 są obecne tylko w cytoplazmie. Oznacza to, że w czasie pojedynczego cyklu poli(A)RNA, snRNP nie wracają do jądra komórkowego.

Pokazano też dystrybucję U snRNA z czapeczką trimetyloguanozyny (TMG) oraz enzymu odpowiedzialnego za tworzenie tej czapeczki syntazę trimetyloguanozynową - TGS1. U Sn RNA z TMG były obecne na terenie CB od 1 do 3 stadium cyklu, co oznacza, że U snRNP wracają do jądra na początku kolejnego cyklu. Lokalizacja enzymu TGS1 wskazywała na cytoplazę, i jedynie pojedyncze sygnały w jądrze na terenie nukleoplazmy, a nie w CB.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że zastosowanie mikroskopii wysokorozdzielczej STED umożliwiło Doktorantce pokazanie sygnałów cytoplazmatycznych dla TMG i TGS1 w bezpośrednim sąsiedztwie, co wskazywało stan tuż po procesie utworzenia czapeczki i obrazowało związek TGS1 w tworzeniu czapeczki TMG.

W kolejnym etapie badano rozmieszczenie koiliny, strukturalnego białka CB, które wykazuje ścisły funkcjonalny związek z białkami U snRNP. Na podkreślenie zasługuje fakt, że badania rozmieszczenia koiliny były możliwe dzięki wcześniejszemu sekwencjonowaniu transkryptomu mikrosporocytów modrzewia przez Doktorantkę. Dzięki temu można było zlecić produkcję stosownych przeciwciał.

Koilina była obecna na terenie CB od wczesnego stadium 1 do 3. Później lokalizowano koilinę głównie na terenie cytoplazmy, gdzie następuje synteza tego białka.

Analizy wykazały także strefowość występowania różnych komponentów CB zarówno białek jak i transkryptów oraz fakt, że sferyczna koncentracja białek i transkryptów zmienia się na terenie CB w czasie cyklu poli(A)RNA

Dyskusja przedstawionych w rozprawie wyników jest ciekawa, przeprowadzona prawidłowo, w oparciu o najnowszą literaturę przedmiotu. Bardzo podoba mi się, że w oparciu o otrzymane wyniki oraz dane literaturowe Doktorantka niejednokrotnie wysuwa nowe hipotezy, które mogą być podstawą realizacji kolejnych projektów badawczych. Pokazuje to, że wyniki zawarte w rozprawie to tylko pewien etap prowadzonych badań.

W pierwszej części Dyskusji Doktorantka podkreśla, że mikrosporocyty modrzewia, podobnie jak u niektórych ssaków, owadów oraz niektórych roślin należą do komórek w których stadium diplotenu trwa długo (kilka miesięcy) i jest najprawdopodobniej powiązane z adaptacją ewolucyjną modrzewia do sezonowego cyklu rozwoju. Bardzo ciekawą hipotezą wyjaśniającą pulsacyjny cykl transkrypcyjny w mikrosporocytach modrzewia, przytoczoną przez Doktorantkę na podstawie literatury, jest mechanizm oszczędności energetycznej dla genów energochłonnych. Z kolei aż dwa dni „ciszy transkrypcyjnej”, jak wyjaśnia Doktorantka, mogą wynikać ze spowolnionego metabolizmu mikrosporocytów w oczekiwaniu na dokończenie podziału mejotycznego. Potwierdzają taki wniosek otrzymane przez Doktorantkę wyniki, które pokazują spadek poziomu aktywnej formy polimerazy RNA II w ostatnich stadiach cyklu, a więc generalnie całociowy spadek transkrypcji w mikrosporocytach, a nie spadek transkrypcji tylko określonych genów.

Z kolei retencja pre mRNA, głównie na terenie CB w mikrosporocytach modrzewia, jak wyjaśnia Doktorantka, jest najprawdopodobniej adaptacją ewolucyjną, w której komórka stopniowo uwalnia dojrzałe mRNA z jądra do cytoplazmy. Jest to zsynchronizowane z zapotrzebowaniem komórki na konkretne białka, minimalizując opóźnienie pomiędzy eksportem danego mRNA, a inicjacją syntezy potrzebnego białka. Jest to szczególnie ważne, w przypadku białek tworzących kompleksy transkrypcyjne i splicingowe, w pulsacyjnym cyklu syntezy, gdzie - jak w mikrosporocytach - modrzewia występują 2 dni „ciszy transkrypcyjnej”.

Miejscem retencji pre mRNA, są głównie CB, które gromadzą, jak pokazały wyniki doświadczeń Doktorantki, zawarte w rozprawie, transkrypty zawierające introny retencyjne. Doktorantka przedstawia możliwe mechanizmy, które mogą być odpowiedzialne za kierowanie pre mRNA do CB, a jednym z nich, choć wcale nie najbardziej przekonującym - jak wynika z Dyskusji przeprowadzonej przez Doktorantkę, jest właśnie obecność w transkrypcie intronów retencyjnych.

W części dyskusji omawiającej wyniki związane z dynamiką składu CB Doktorantka wiąże te zmiany z rolą CB w przestrzennej i czasowej organizacji różnych procesów metabolicznych. Potwierdzają to wyniki Doktorantki dotyczące biogenezy U snRNP - integralnych składników kompleksu spliceosomalnego, obecne w CB, gdzie przechodzą proces dojrzewania i są przechowywane. Jak napisała Doktorantka „Analiza przebiegu dojrzewania tych cząsteczek nabrała szczególnego znaczenia w kontekście obserwowanej pulsacyjnej aktywności transkrypcyjnej, która stwarza konieczność szybkiego złożenia dużej liczby kompleksów splicingowych, bezpośrednio przed oraz w trakcie trwania pulsu transkrypcyjnego. Co istotne, wyniki przeprowadzonych przez Doktorantkę doświadczeń wykazały, że w sposób pulsacyjny, w stadium intensywnej transkrypcji, jest też syntezowane snRNA. Jest to wynik nowy dla Nauki, nieopisywany dotychczas w literaturze przedmiotu.

Nowością dla Nauki było także stwierdzenie braku białek strukturalnego CB – koiliny w jądrze w czasie 4 i 5 stadium cyklu poli(A)RNA oraz fakt, że mimo braku koiliny CB mogą zachować integralność strukturalną. W dalszej części tego rozdziału Doktorantka dyskutuje możliwe przyczyny okresowego braku koiliny w CB.

Dyskusja kończy się pięknym schematem pokazującym graficznie zmiany składu badanych przez Doktorantkę komponentów CB w cyklu syntezy i eksportu poli(A) RNA.

Bardzo podobają mi się także te fragmenty Dyskusji, w których Doktorantka wyjaśnia możliwe przyczyny negatywnego wyniku niektórych zastosowanych technik. Doktorantka dopuszcza możliwość, że brak wyniku danego znakowania mógł być rezultatem, np. niewłaściwej penetracji przeciwciał czy utrudnionemu rozpoznaniu właściwej sekwencji antygeny przez przeciwciała ze względu na konformację cząsteczki. Generalnie, takie podejście świadczy o dystansie Doktorantki do otrzymanych wyników i pewnej pokorze, a jednocześnie dojrzałości badacza, który zdaje sobie sprawę, że przyczyn negatywnego wyniku danej, zastosowanej techniki może być wiele i bierze to pod uwagę.

Uwagi szczegółowe

1. Brakuje zdecydowanie wykazu skrótów stosowanych w pracy. Doktorantka wielokrotnie wprowadza skrót nie wyjaśniając go lub wyjaśniając go później. Przykładowo, skrót U snRNP pojawia się po raz pierwszy na str. 10 streszczenia i 21 Wstępu, a wyjaśnienie znajduje się na stronie 26, czy P-bodies (str. 15 Wstępu) – znów bez wyjaśnienia czym są - i wiele innych. Nie zawsze pracę czytają wyłącznie specjaliści z danego zakresu wiedzy (dla których te wyjaśnienia oczywiście nie są potrzebne). Dla niespecjalistów, nawet biologów, tekst taki może jednak być hermetyczny. Ponadto, zasada w pisaniu prac naukowych jest taka, że zastosowany skrót wyjaśniamy w pierwszym miejscu jego użycia w tekście.
2. Uwagi terminologiczne: Doktorantka używa terminu „podwójna błona” (str. 13) określając otoczkę jądra, plastydów i mitochondriów. Jest to częsty błąd. Termin ten jest niepoprawny. Jest kalką z języka angielskiego. Jądro, wszystkie plastidy, mitochondria są otoczone dwiema błonami, czyli otoczką. Między tymi dwiema błonami występuje przestrzeń. W Dyskusji, str. 137, Doktorantka napisała o: „pęknięciu osłonki jądrowej” w diakinezie. Jest to również termin niepoprawny, gdyż przede wszystkim, mówimy o otoczce jądrowej, a nie osłonce oraz nie ulega ona pęknięciu, ale fragmentacji. Terminologia, o której napisałam jest stosowana w podręczniku „Biologia komórki roślinnej” autorstwa P. Wojtaszek, A. Woźny, L. Ratajczak PWN 2015r., a dane podręcznikowe są podstawą stosowania określonej terminologii.
3. Str.14. Doktorantka przytacza przykłady, tzw. kanonicznych, obłonione organelle, jak mitochondria, chloroplasty, czy lizosomy. Oczywiście nie ma błędu w podaniu lizosomów jako obłonionych struktur komórkowych. Niemniej, nie występują one w komórkach roślinnych, a takich dotyczy niniejsza praca. Wprowadza to małe zamieszanie. Myślę, że lepiej byłoby wymienić w tym miejscu, np. wakuolę, czy peroksosomy.
4. Str. 36. Doktorantka napisała „Z kolei stres biotyczny wywołują szkodniki oraz patogeny”. W Biologii raczej unikamy terminu „szkodniki”, ponieważ, jak wiadomo, w Naturze i jej ekosystemach, żadne organizmy nie są szkodnikami. To typowe ujęcie z punktu widzenia człowieka.
5. W rozdziale dotyczącym wzorców syntezy i eksportu różnych mRNA Doktorantka podaje przykłady mRNA innych białek charakteryzujących się podobnym do badanych wzorem syntezy i eksportu, odkrytych przez innych autorów (Rudzka 2020, Wróblewska-Ankiewicz – dane niepublikowane). Myślę, że takie informacje powinny być zamieszczone raczej w Dyskusji niż w rozdziale Wyniki. Ponadto, Doktorantka podaje same skróty nazw białek, bez ich pełnej nazwy.
6. Str. 40. Nie do końca poprawne umieszczenie cytacji. Cytacje z reguły podajemy w nawiasie, po przytoczonych wcześniej danych. Chyba, że chcemy podkreślić czyjś wkład w otrzymanie określonych wyników - wtedy z reguły umieszczamy nazwisko na początku zdania. Ten zabieg powtarza się też w innych miejscach tekstu rozprawy.
7. Str. 64. Doktorantka opisuje materiał badawczy. Warto byłoby zaznaczyć gdzie rosły drzewa, z których pobierano pąki do badań. Z reguły podaje się miejsce i współrzędne.

7. Str. 64. Doktorantka opisuje materiał badawczy. Warto byłoby zaznaczyć gdzie rosły drzewa, z których pobierano pąki do badań. Z reguły podaje się miejsce i współrzędne.
8. Dość liczne przejęzyczenia i literówki, np. w rozdziale 5.5.2. dotyczącym koiliny białka strukturalnego CB znajdujemy liczne przeinaczenia nazwy tego białka : kolinina czy kolina. Na stronie 126 napisano: enzym syntezę trimetyloguanozynową, a powinno być syntazę trimetyloguanozynową.
9. Ryc. 19 A - pierwsza kolumna - powinna być opisana pre mRNA RPB10 , a nie mRNA RPB10 - zawiera bowiem intron retencyjny i w opisie ryciny 19A - poniżej mamy pre mRNA. Podobne błędy na ryc.20, 24,26, 28 30 pierwsza kolumna to pre mRNA tych białek mRNA, a pre mRNA to jednak zasadnicza różnica.

Podsumowanie i Wniosek Końcowy

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pani mgr Karoliny Moniki Majewskiej spełnia wszystkie wymogi zawarte w art. 187 ustawy z dnia 18 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2018 poz. 1668, ze zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, o dopuszczenie Pani mgr Karoliny, Moniki Majewskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora, w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Chciałabym podkreślić, że wysoko oceniam przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską pani mgr Karoliny Moniki Majewskiej zarówno pod względem koncepcji, jak i wartości merytorycznej. Uwagi, które zawarłam w recenzji nie obniżają, w mojej ocenie, wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej i mają raczej na celu zwrócenie uwagi Doktorantki na pewne kwestie w przyszłości. Praca dotyczy stosunkowo nowego dla Nauki zagadnienia jakim jest udział i zmienność składu Ciał Cajala, jako nieobłoniętej struktury obecnej na terenie jądra komórkowego, związanej z retencją transkryptów, ich dojrzewaniem i czasowym przechowywaniem.

Rozprawa zawiera wiele wyników Nowych dla Nauki, m.in. stwierdzenie pulsacyjnej syntezy snRNA, pokazanie cyklicznego mechanizmu syntezy U snRNP (gl. stadium 1), a następnie jego „globalnej degradacji” (stadium 4 i 5) oraz kolejnej syntezy przed następnym cyklem intensywnej transkrypcji odbywającej się w jądrze w cyklu poli(A)RNA, czy utrzymania integralności Ciał Cajala nawet w okresie braku w nich strukturalnego białka, jakim jest koilina.

Na podkreślenie zasługuje także zróżnicowanie technik badawczych, piękna strona dokumentacyjna pracy oraz dobrze napisany tekst rozprawy, szczególnie dojrzała Dyskusja. Warto podkreślić, że część wyników dotyczących czasu trwania poszczególnych stadiów cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA oraz wzorców syntezy i eksportu mRNA została opublikowana w pracy zamieszczonej w *International Journal of Molecular Sciences* 22(16), 8501, której pani Karolina Monika Majewska jest pierwszym autorem.

Biorąc wszystkie te aspekty pod uwagę wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny, Moniki Majewskiej stosowną nagrodą.

Magdalena Krzesłowska

Dr hab. Magdalena Krzesłowska prof. UAM