

Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Moniki Majewskiej
pt. „*Dynamika składu molekularnego ciał Cajala jako centrów*
***regulacyjnych retencji mRNA*”**

Opis ogólny

Rozprawa doktorska Pani Karoliny Moniki Majewskiej została wykonana w Katedrze Biologii Komórkowej i Molekularnej pod kierunkiem dra hab. Dariusza Jana Smolińskiego, prof. UMK oraz dr Agnieszki Kołowerzo-Lubnau. Rozprawa ma formę monografii, składa się z: Wstępu, Celu pracy, Materiałów, Metod, Wyników, Dyskusji, Podsumowania, oraz Literatury. Część rozdziałów została podzielona na liczne podrozdziały. Sam wstęp jest tak rozbudowany a jednocześnie na wysokim poziomie merytorycznym, że mógłby stanowić artykuł przeglądowy dotyczący biomolekularnych kondensatów i ich roli w komórkach eukariotycznych.

Zamieszczono, także: informacje o źródłach finansowania badań oraz pracach opublikowanych przez doktorantkę, a także wykaz rycin i tablic oraz suplementy. Rozprawa liczy 205 stron tekstu, zawiera 40 rycin w tym schematy, tabele, oraz plansze ze zdjęciami. Literatura liczy 164 pozycji.

Od strony formalnej rozprawa została przygotowana starannie. Język pracy jest poprawny, precyzyjny i zgodny z zasadami stylu naukowego. Dokumentacja naukowa w postaci fotografii z mikroskopu konfokalnego jest najwyższej jakości, doceniam także schematy, które ułatwiają zrozumienie problemu badawczego.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (m.in. grant Preludium, którego kierowniczką była Pani Majewska) oraz programu „Inicjatywa doskonałości – uczelnia badawcza” UMK, co świadczy, że doktorantka z sukcesem potrafi zdobywać środki na badania naukowe.

Obowiązkiem recenzenta jest wskazanie, także słabszych stron pracy. Mam zastrzeżenie dotyczące umieszczenia w rozdziale wyniki odniesień do literatury oraz niepublikowanych wyników innych autorów, takie odniesienia nie powinny znaleźć się w tej części rozprawy, przynależą do dyskusji. Należy zaznaczyć, iż ta krytyczna uwaga nie pomniejsza wartości merytorycznej dysertacji.

Wartość naukowa i merytoryczna rozprawy

W ocenie rozprawy naukowej najważniejszy jest oryginalny problem naukowy oraz jak problem ten został rozwiązany. Rozprawa podejmuje aktualny i istotny problem biologii molekularnej komórki,

dotyczący struktury i funkcji nieobłonionych organelli jakimi są biomolekularne kondensaty. Problematyka ta jest niezmiernie interesująca m.in. z powodu, że te specyficzne organelle mają udział w utrzymaniu długości telomerów, co ma wpływ na starzenie się komórek oraz powstawanie różnych jednostek chorobowych u ssaków

Doktorantka analizowała posttranskrypcyjną regulację ekspresji genów, ze szczególnym uwzględnieniem jądrowej retencji mRNA oraz roli ciał Cajala w tym procesie. Choć mechanizmy jądrowej retencji transkryptów były intensywnie badane w komórkach zwierzęcych, ich znaczenie u roślin, zwłaszcza w kontekście komórek mejotycznych pozostawało dotychczas słabo poznane. Temat rozprawy wpisuje się w szerszy nurt badawczy realizowany do lat w Katedrze Biologii Komórkowej i Molekularnej UMK, co uważam za duży atut.

Głównym celem pracy było zidentyfikowanie transkryptów wykazujących retencję intronów oraz zbadanie składu molekularnego ciał Cajala na poszczególnych etapach cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA. Jako model badawczy wybrano modrzewia europejskiego *Larix decidua* Mill.. Wybór mikrosporocytów tego gatunku jako modelu badawczego należy uznać za szczególnie trafny. Komórki te charakteryzują się: dużymi jądrami, wyraźną pulsacyjną aktywnością transkrypcyjną, dobrze zdefiniowanymi stadami mejotycznymi, co czyni je wyjątkowo przydatnym systemem do badań nad czasową regulacją losów transkryptów i funkcjonalną plastycznością struktur jądrowych. Autorka w pełni wykorzystuje potencjał tego modelu stosując różnorodny i zawansowany molekularny warsztat badawczy oraz analizy bioinformatyczne. Zastosowano również mikroskopie konfokalną i mikroskopie wysokorozdzielczą, czego wynikiem jest doskonała dokumentacja fotograficzna.

Do ważnych osiągnięć doktorantki należą:

- ✓ Wykazanie, że w mikrosporocytach, które charakteryzują się pulsacyjną aktywnością transkrypcyjną, poszczególne mRNA różnią się dynamiką eksportu.
- ✓ Stwierdzenie, że większość transkryptów akumulowanych w ciałach Cajala zawiera retencyjne introny, które są ostatecznie usuwane w procesie splicingu.
- ✓ Stwierdzenie obecności koiliny w ciałach Cajala we wczesnych etapach cyklu co potwierdza kluczową rolę tego białka w rekrutacji U snRNP oraz inicjacji tworzenia tej struktury.
- ✓ Stwierdzenie, że to białko nie jest niezbędne dla utrzymania integralności strukturalnej ciał Cajala w późnej fazie cyklu syntezy i eksportu poli(A)RNA.

Jednak najważniejszym osiągnięciem naukowym Pani Karoliny Moniki Majewskiej jest stwierdzenie, że **funkcja ciał Cajala ewoluuje w czasie** (na początku cyklu gromadzą dojrzałe kompleksy U snRNP, które są wykorzystywane w procesie ko-transkrypcyjnego splicingu; pod

koniec cyklu ciała Cajala stają się przede wszystkim miejscem akumulacji snRNA przygotowywanych do eksportu z jądra do cytoplazmy).

Uważam, że Doktorantka rozwiązała oryginalny problem badawczy, jaki przed sobą postawiła. Ponadto wykazała się dojrzałością naukową, umiejętnością pracy w zespole, świetnie opanowała zarówno warsztat biologa molekularnego jak i pracę z mikroskopią konfokalną, oraz potrafiła zdobyć środki finansowe na prowadzenie badań. Należy podkreślić, że dysertacja Pani Karoliny Moniki Majewskiej jak i prace naukowe promotorów rozprawy stanowią ważny krok w zrozumieniu znaczenia ciał Cajala i mechanizmów regulacji retencji mRNA w komórkach roślin. Godne podkreślenia jest także, że doktorantka wykazała się świadomością ograniczeń metodycznych oraz ich roli w uzyskanych wynikach, co bardzo dobrze świadczy o młodej naukowczyni.

Podczas czytania rozprawy nasunęło mi się kilka pytań:

- Czy obserwowane pulsy transkrypcyjne mikrosporocytów mogą być związane z strategią adaptacyjną związaną ze stresem środowiskowym np. wahaniami temperatury?
- Doktorantka stwierdziła, że domeny jądrowe tzw. nuclear speckles w jądrach mikrosporocytów modrzewia są słabiej zorganizowane niż NS w komórkach zwierzęcych. Czy są dane jak te domeny są zorganizowane u innych gatunków roślin?
- Doktorantka obserwowała okresowe zanikanie białka koliny z ciał Cajala, czy podobne obserwacje podawane były u innych gatunków?

Podsumowując stwierdzam, że dysertacja doktorska Pani mgr Karoliny Moniki Majewskiej spełnia warunki stawiane przed rozprawami doktorskimi zgodnie z wymaganiami określonymi w art. 187 ust. 1-2 i art. 190 ust. 3 Ustawy z dn. 20.07.2018 r. Prawo o Szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2024 poz. 1571) i wnioskuję do szanownej Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na wysoki merytoryczny poziom przedstawionej dysertacji wnioskuję do szanownej Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu o nagrodzenie Pani Karoliny Moniki Majewskiej.