



Dr hab. prof. UAM Magdalena Krzesłowska
Zakład Botaniki Ogólnej
Wydział Biologii
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
Ul. Umultowska 89
61-614 Poznań

Poznań, dn. 30.09.10.2020r

***Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Magdy Rudzkiej, pt.
„Potranskrypcyjna regulacja ekspresji genów związana z retencją transkryptów na terenie jądra
komórkowego”***

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska dotyczy stosunkowo nowego obszaru badań związanego z retencją na terenie jądra komórkowego dojrzałego mRNA jak i pre-mRNA. Mechanizm ten, polega na opóźnieniu 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. Zjawisko to odkryto zarówno w komórkach ludzkich, zwierzęcych, u drożdży, jak i w komórkach roślinnych.

Warto podkreślić, że pracę wykonano, m.in. dzięki finansowaniu z pozyskanych przez Doktorantkę grantów:

- Z Narodowego Centrum Nauki grant Preludium (10 2015/19/N/NZ3/02410), przyznany dla autora rozprawy;
- Z Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska (granty badawcze UMK dla młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich), przyznany dla autora rozprawy w latach 2014, 2015, 2016;
- oraz grantu Sonata 11 2016/21/D/NZ3/00369, w którym Doktorantka była wykonawcą

Ocena Formalna Pracy

Przedstawiona do oceny praca liczy 162 strony i ma typowy dla rozprawy doktorskiej układ rozdziałów: streszczenie, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki wraz z tablicami, tabelami i schematami, dyskusja, podsumowanie, literatura.

Wstęp liczy 35 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 (czytałam go z przyjemnością) i pokazuje znajomość literatury przedmiotu Doktorantki. Zawiera, m.in. omówienie mechanizmów transkrypcji genów, mechanizmów związanych z regulacją ekspresji genów w komórkach eukariotycznych, w tym omówienie dotychczasowego stanu wiedzy na temat retencji mRNA i pre-mRNA na terenie jądra – co stanowi główne zagadnienie przedstawionej do oceny rozprawy. Wstęp zawiera ponadto omówienie procesu transportu mRNA z jądra do cytoplazmy, mechanizmów regulacji ekspresji genów na terenie cytoplazmy oraz charakterystykę obiektu badawczego, czyli mikrosporocytów modrzewia europejskiego. W tej części rozdziału przedstawiono, m.in. cykl aktywności transkrypcyjnej mikrosporocytów, podczas diplotenu profazy I mejozy, opublikowany wcześniej przez zespół Kołowerzo-Lubnau i wsp. 2015 w PlosOne. W cyklu tym wyróżniono 5 etapów wysokiej aktywności transkrypcyjnej. Stwierdzono, że IV etap, trwał najdłużej i wykorzystano go do badań retencji transkryptów genów kodujących wybrane białka, w niniejszej rozprawie doktorskiej.

Jak wspomniałam, wstęp pracy jest bardzo dobrze napisanym rozdziałem i zachęcałabym Doktorantkę do opublikowania tego materiału, czy jego fragmentów, w postaci pracy przeglądowej, np. w Postęпах Biochemii czy Postęпах Biologii Komórki. Praca taka stanowiłaby wartościowe kompendium współczesnej wiedzy na temat mechanizmów transkrypcji oraz regulacji ekspresji genów dla studentów wydziałów przyrodniczych i medycznych, a także dla pracowników.

Jako osobny rozdział wyodrębniono „Cel Pracy”. W rozdziale tym przedstawiono hipotezę badawczą, która zakłada, że retencja mRNA na terenie jądra komórkowego stanowi potranskrypcyjny mechanizm regulacji ekspresji genów niezbędnych w kolejnych etapach rozwoju komórki roślinnej. Jest to bardzo ważny problem, gdyż retencja mRNA nie zawsze stanowi mechanizm regulacji ekspresji genów, a często jest związana z eliminacją mRNA zawierającego błędy.

Powyzszą hipotezę weryfikowano rozwiązując 4 główne zagadnienia badawcze, które obejmowały:

- (1) identyfikację transkryptów, które ulegają ekspresji w mikrosporocytach podczas cyklu syntezy, gromadzenia i transportu poli(A) RNA,
- (2) określenie czasu retencji mRNA w cyklu, oraz zaangażowanie domen jądrowych w ich retencję,
- (3) prześledzenie cyklu eksportu wybranych transkryptów ulegających ekspresji w mikrosporocytach,
- (4) weryfikację w jakiej formie (dojrzałej, czy nie dojrzałej) transkrypty, ulegają retencji na terenie jądra komórkowego.

Jako materiał do badań wykorzystano mikrosporocyty modrzewia *Larix decidua* (Mill.), czyli komórki macierzyste mikrospor, a konkretnie izolowane, pozbawione ściany komórkowej, protoplasty mikrosporocytów. Niewątpliwie obecność ściany komórkowej utrudnia badania komórek roślinnych i stosunkowo wiele badań przeprowadza się na, tzw. izolowanych protoplastach. Niemniej, należy pamiętać, że usunięcie ściany jest stresem dla komórki i dlatego do otrzymanych wyników, z wykorzystaniem izolowanych protoplastów, należy podchodzić z pewną dozą ostrożności, choć w przypadku obiektów wcześniej utrwalonych, ma to mniejsze znaczenie.

Chciałabym zapytać Doktorantkę - jakie względy spowodowały, że przeprowadzono badania na izolowanych protoplastach mikrosporocytów modrzewia, a nie na komórkach z zachowaną ścianą komórkową, tym bardziej, że jak napisała Doktorantka, mikrosporocyty są otoczone jedynie cienką, pektynowo-celulozową ścianą komórkową? Badania prowadzono na komórkach nie pokrojonych na skrawki - dzięki którym tworzą się perforacje ściany umożliwiające wnikanie do protoplastu

przeciwcał wykorzystywanych w reakcjach immunocytochemicznych. Niemniej jednak, czy dla zobrazowania transkryptów i białek, w zastosowanych technikach immunocytochemicznych, niemożliwe było jedynie nadtrawienie ścian komórkowych? Pytam dlatego, że sama tak robiłam, badając, m.in. cytoszkielet komórek spleśnia mchu w „całych”, nie pokrojonych na skrawki, komórkach.

Bez wątplenia, 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.

Do badań ilościowych zastosowano pomiar intensywności fluorescencji oraz odwrotną transkrypcję i PCR w czasie rzeczywistym (qPCR). Przeprowadzono także analizy ilościowe i jakościowe kwasów nukleinowych.

Warto podkreślić jest dobry, szczegółowy opis stosowanych w pracy technik, co pozwoli na ewentualne powtórzenie doświadczeń w przyszłości.

Ocena wartości merytorycznej pracy

Rozdział „Wyniki” obejmuje 46 stron i zawiera dobrze i przejrzysto przedstawione rezultaty przeprowadzonych doświadczeń, zilustrowane, m.in. licznymi mikrografiami z mikroskopu konfokalnego, pokazującymi dane jakościowe oraz wykresami ilustrującymi dane ilościowe.

Kolejne podrozdziały „Wyników” pokazują etapy logicznego, przemyślanego i konsekwentnie rozwiązywanego problemu badawczego, zawartego w hipotezie badawczej. W wielu miejscach znajdujemy też wyjaśnienia, dlaczego podjęto przeprowadzenie danych eksperymentów.

Na początku niniejszego rozdziału pokazano dystrybucję poli(A) RNA w komórkach mikrosporocytów modrzewia, w IV, najwyższym okresie transkrypcyjnym diplotenu profazy I mejozy (który jak wspomniałam ustalono wcześniej i opublikowano w 2015 roku).

Wyniki badań dotyczące rozmieszczenia poli(A) RNA zamieszczone w niniejszej pracy pozwoliły wyróżnić 4 stadia w jego rozmieszczeniu, które wykorzystano w dalszych badaniach do określenia retencyjności transkryptów genów kodujących wybrane białka:

- I- gdzie poli(A) RNA występowało tylko w jądrze komórkowym,
- II- gdzie nagromadzenie poli(A) RNA występowało głównie w jądrze komórkowym, ale niewielka ilość pojawiała się w cytoplazmie,
- III- w którym występowało znaczne obniżenie ilości poli(A) RNA w jądrze komórkowym, a wyraźnie zwiększa się jego poziom w cytoplazmie oraz
- IV- w którym poli(A) RNA występowało głównie w cytoplazmie.

Wyniki tych badań pokazały bardzo jasno, że nowo zsyntezowane poli(A) RNA nie było w całości, od razu transportowane do cytoplazmy i ulegało retencji na terenie jądra komórkowego aż do III stadium - zarówno na terenie nukleoplazmy, jak i struktur, takich jak ciała Cajala. Transport większości poli(A) RNA z jądra do cytoplazmy odbywał się w III stadium, gdyż w IV stadium poli(A) RNA występowało głównie w cytoplazmie.

Warto podkreślić, że wyniki dotyczące poziomu poli(A) RNA w jądrze i w cytoplazmie, przedstawione na mikrografiach z mikroskopu konfokalnego, potwierdzono danymi ilościowymi.

W kolejnym etapie badań przeprowadzono analizę transkryptomu mikrosporocytów modrzewia, aby sprawdzić jakie transkrypty są syntetyzowane w trakcie pojedynczego cyklu wcześniej wybranego, IV, etapu aktywności transkrypcyjnej. Z kolei w celu sprawdzenia, które transkrypty są potencjalnie funkcjonalne i mogą ulegać translacji przeprowadzono analizę transkryptomu cytoplazmatycznego.

Spośród transkryptów uzyskanych podczas analizy transkryptomu cytoplazmatycznego mikrosporocytów, wybrano 15, które reprezentowały główne klasy mRNA pod względem funkcjonalnym oraz ilościowym, po analizie wzbogacenia. Następnie zaprojektowano sondy i wykonano reakcję FISH w celu zbadania zmian dystrybucji wybranych transkryptów podczas cyklu.

Wybrano mRNA kodujące:

- (1) białka związane z fotosyntezą i plastydami: białko wiążące chlorofil a-b (LHCP) oraz plastydowa polimeraza RNA (PEP);
- (2) białka związane z transkrypcją i procesami modyfikacji potranskrypcyjnej: podjednostka 10 polimerazy II RNA (RPB10), białka Sm, białko wiążące ogon poli(A) 4 (PABP4),
- (3) białka związane z rybosomami, translacją i modyfikacją potranslacyjną białek: białko małej podjednostki rybosomowej S6 (RS6), czynnik inicjacji translacji 5b (eIF5b), czynnik elongacji translacji 1a (EF1a), białko z domeną DNaJ (DNJ),
- (4) białka związane z mitochondriami i przemianami energetycznymi: podjednostka 7 dehydrogenazy NADH (NAD7), dehydrogenaza bursztynianowa (SDH),
- (5) białka związane z cytoszkieletem: aktyna (ACT), tubulina (TBP)
- (6) białka zewnątrzkomórkowe związane z metabolizmem ściany komórkowej: perkosydaza 40 (PER40), celuloza (CELL2).

Po dokonaniu wyboru, przeprowadzono analizy mikroskopowe występowania transkryptów na terenie jądra komórkowego i cytoplazmy mikrosporocytów modrzewia - w czterech wcześniej określonych stadiach. Rezultaty tych obszernych badań ilustrują liczne tablice z mikrografiami z mikroskopu konfokalnego. Sposób pokazania wyników jest jednak bardzo czytelny, ponieważ w danym stadium przedstawiono tę samą komórkę, w tej samej skali, w 4 odsłonach: w I kolumnie pokazano rozmieszczenie tylko Poli(A) RNA, w II kolumnie - tylko transkryptu danego białka, np. mRNA tubuliny, w III kolumnie rozmieszczenie zarówno Poli(A) RNA jak i transkryptu badanego białka, a w IV kolumnie widzimy zarys jądra komórkowego określony na podstawie wyznakowania chromatyny jądrowej DAPI. Ponadto, zarys jądra komórkowego zaznaczono schematycznie na mikroografiach w każdej kolumnie, co bardzo ułatwia analizę tablic. Prześledzenie wyników ułatwia także bardzo dobra jakość zdjęć.

Chciałabym jednakże zwrócić uwagę, że przy opisie zdjęć, w opisie kolumn, oznaczonych jako III w tablicach, które przedstawiają rozmieszczenie transkryptu danego białka, zastosowano skrót odnoszący się tylko do białka, np. TBP – oznaczający tubulinę - co może sugerować, że pokazano rozmieszczenie białka, a nie jego mRNA. W opisie tych kolumn powinno być, np. mRNA TBP.

Jako biolog komórki, chcę także zwrócić uwagę Doktorantki, że generalnie na obrazach mikroskopowych, jąderko - oznaczamy – „Nu” (*ang. Nucleolus*), a nie „J” - jak oznaczono na tablicach w pracy, szczególnie, że ciała Cajala - oznaczono jako CB (*ang. Cajal Bodies*), a nie, np. CC - ciało Cajala - po polsku.

Wyniki obserwacji w mikroskopie konfokalnym pozwoliły podzielić mRNA wybranych wcześniej białek na transkrypty długoretencyjne, transkrypty krótkoretencyjne oraz transkrypty, które nie ulegały retencji w jądrze komórkowym i były od razu transportowane do cytoplazmy.

Do transkryptów długoretencyjnych zaliczono dwa: mRNA 10 podjednostki polimerazy IIRNA oraz mRNA białek Sm. Zamieszczone mikrografie z mikroskopu konfokalnego obrazują wyraźnie retencję znacznej ilości tych dwóch transkryptów, aż do III stadium.

Doktorantka napisała, że maksimum transkryptów pojawiło się w cytoplazmie w IV stadium, przy niewielkim transporcie do cytoplazmy w II i III stadium.

Jednakże analizując zaprezentowane zdjęcia możemy zauważyć, że znaczna część transkryptów pojawiła się w cytoplazmie już w II stadium, zarówno w przypadku RPB10 mRNA jak i mRNA białek Sm. Później, w III stadium, obserwujemy zdecydowanie mniej transkryptów w cytoplazmie i ich nagromadzenie w jądrze komórkowym (w tym także na terenie ciał Cajala), a w IV stadium widać ponownie nagromadzenie transkryptów w cytoplazmie.

Chciałabym zapytać w tym miejscu - jak wytłumaczyć pojawienie się części transkryptów tych dwóch białek na terenie cytoplazmy w II stadium? Z zaprezentowanych obrazów wynika, że synteza mRNA tych białek trwała najprawdopodobniej do III stadium. Jak Doktorantka sądzi - czy można to wyjaśnić fluktuacyjnym eksportem tych transkryptów z jądra do cytoplazmy? Czy raczej część transkryptów zostaje wyeksportowana do cytoplazmy w II stadium (czy na przełomie I i II stadium), a część pozostaje w jądrze przez dłuższy czas do III stadium?

Oprócz transkryptów długoretencyjnych wyróżniono grupę transkryptów krótkoretencyjne, które podzielono na:

- (A) Transkrypty nagromadzone w jądrze komórkowym do II stadium i od III stadium występujące w dużej ilości w cytoplazmie. Do grupy tej włączono: mRNA peroksydazy 40 (PER – 40), mRNA dehydrogenazy bursztynianowej, mRNA tubuliny (TBA), mRNA białka wiążącego poli A(4) (PaBP4), mRNA białka małej podjednostki rybosomalnej S6 (RS6). Szczególnie dobrze widać tę tendencję, retencji mRNA aż do II stadium, w przypadku mRNA tubuliny i mRNA białka wiążącego poliA(4).
- (B) Transkrypty nagromadzone w jądrze tylko w I stadium, a od II stadium występujące w dużej ilości w cytoplazmie. Zaliczono do nich: mRNA aktyny (ACT), mRNA czynnika inicjacyjnego translacji 5b (eIF5b) – w tym przypadku tendencja widoczna była najwyraźniej - oraz mRNA białka z domeną DNaj (DNJ).

Wyróżniono także transkrypty nieretencyjne, czyli takie, w przypadku których nie obserwowano opóźnienia transportu z jądra komórkowego do cytoplazmy. W przypadku tych transkryptów ich nagromadzenie, zarówno na terenie jądra komórkowego jak i cytoplazmy, odnotowywano od I stadium. Transkryptami nieretencyjnymi okazały się: mRNA plastydowej polimerazy RNA (PEP) – obecny w jądrze tylko w I stadium później już głównie w cytoplazmie, mRNA celulazy (CELL2 - którego szczególne nagromadzenie odnotowano na terenie jąderka), mRNA białka wiążącego chlorofil (LHCP), mRNA białka podjednostki 7 dehydrogenazy (NAD7 - szczególnie dużo tego transkryptu odnotowano na terenie jąderka i ciał Cajala), mRNA czynnika elongacji translacji 1A (eF1A), którego znaczna część transkryptu występowała również w jąderku i ciałach Cajala.

Jak Doktorantka sądzi, dlaczego niektóre transkrypty są gromadzone w CB i Nu, a inne nie?

W kolejnym etapie badań sprawdzono czy mRNA ulegające retencji na terenie jądra komórkowego, to funkcjonalne mRNA ulegające translacji. Moim zdaniem, jest to bardzo cenna część wyników, ponieważ retencyjne mRNA, jak zaznaczyła Doktorantka, nie zawsze jest funkcjonalne, gdyż retencji mogą ulegać również wadliwe transkrypty, które nie przechodzą pozytywnie kontroli jakości i ulegną degradacji.

Do badań tych wybrano mRNA białek Sm, które w poprzednim etapie zaliczono do mRNA długoretencyjnych, czyli pozostających w jądrze komórkowym aż do III stadium.

W tej części wyników Doktorantka napisała, m.in.: „wzrost ilości mRNA białek Sm w cytoplazmie odnotowano podczas trzeciego etapu, który koreluje ze wzrostem ilości białek Sm w tym kompartmentcie komórkowym”. Wprowadziłabym do tego stwierdzenia niewielką korektę. Moim zdaniem, analiza ilościowa mRNA białek Sm na terenie jądra i cytoplazmy oraz obrazy reakcji immunocytochemicznych pokazały, że wyraźny wzrost ilości mRNA białek Sm w cytoplazmie nastąpił nie tyle podczas, ale raczej po III stadium lub na przełomie III i IV stadium, osiągając maksimum w IV stadium. Jednocześnie reakcja qPCR wykazała, maksymalny poziom ekspresji mRNA kodującego białka Sm (konkretnie SmG) w IV stadium. W III stadium bowiem, jak wynika z zamieszczonych mikrografii reakcji immunocytochemicznej oraz wykresu badań ilościowych (ilościowy FISH), mRNA białek Sm był zlokalizowany jeszcze, przede wszystkim, na terenie jądra komórkowego.

Co jednak najważniejsze, w pełni zgadzam się z główną konkluzją Doktorantki, dotyczącą tej części badań, że korelacja wzrostu ilości mRNA białek Sm w cytoplazmie oraz zsyntezowanych białek Sm w cytoplazmie, przemawia za tym, że mRNA tych białek, ulegający retencji długoterminowej, po eksporcie do cytoplazmy, jest funkcjonalnym mRNA. A więc, co istotne, retencja tego mRNA nie jest związana z degradacją nieprawidłowego mRNA, ale najprawdopodobniej z pewnymi wymogami cyklu rozwojowego mikrosporocytów.

Wyniki kolejnego etapu badań rozprawy doktorskiej p. mgr Magdy Rudzkiej pokazały, że niektóre z długoretencyjnych transkryptów - takich białek jak SmG, D1 i D2 oraz transkrypt jednej z podjednostek polimerazy II RNA- RPB10 - ulegały retencji nie jako dojrzałe mRNA, ale jako pre-mRNA z zachowanymi intronami.

Całość przedstawionych przez Doktorantkę wyników pokazała, że zjawisko retencji mRNA i pre-mRNA występuje w mikrosporocytach modrzewia i stanowi potranskrypcyjny mechanizm regulacji ekspresji genów, gdyż retencyjne mRNA, po wyeksportowaniu do cytoplazmy funkcjonuje jako matryca do syntezy odpowiednich białek. Zatem, otrzymane przez Doktorantkę wyniki potwierdzają słuszność postawionej hipotezy badawczej.

Dyskusja otrzymanych wyników jest przeprowadzona prawidłowo, w oparciu o najnowszą literaturę przedmiotu, z uwzględnieniem osiągnięć dotyczących retencji mRNA odnotowanych w komórkach ludzkich, zwierzęcych, u drożdży, a także w komórkach roślinnych, np. u *Marsilea vestita*. Sformułowane wnioski są adekwatne do uzyskanych wyników i w pełni uzasadnione. Znaczną część wyników dotyczącą transkryptów długo-, krótko- i nieretencyjnych podsumowano zamieszczając czytelny schemat (Ryc. 29).

W dalszej części tego rozdziału Doktorantka dyskutuje rolę intronów pre-mRNA, który ulega retencji. Dowiadujemy się m.in., że obecność w transkryptach intronów retencyjnych, tzw. intronów „zatrzymanych” (ID), tak jak to odnotowano w niektórych transkryptach w mikrosporocytach modrzewia, zapobiega właśnie ich natychmiastowemu transportowi do cytoplazmy i translacji. Jednakże w wyniku, np. oddziaływania niektórych bodźców, introny te mogą przechodzić potranskrypcyjny splicing, a następnie, dojrzały mRNA, jest transportowany do cytoplazmy, gdzie ulega translacji. Doktoranta dyskutuje także możliwe mechanizmy, które powodują, że mRNA, a szczególnie pre-mRNA zawierający ID, pozostaje przez pewien czas na terenie jądra komórkowego. Dowiadujemy się także, że retencja transkryptów na terenie domen jądrowych takich jak ciała Cajala

oraz jąderka, którą udokumentowała Doktorantka, jest nową, nieopisywaną wcześniej funkcją tych struktur.

Problem różnego czasu retencji transkryptów badanych białek nie jest dyskutowany w pracy. Rozumiem, że niewiele jest jeszcze danych, które pozwoliły by przybliżyć dlaczego właśnie transkrypty tych, a nie innych białek ulegają dłuższej lub krótszej retencji lub nie ulegają jej wcale. Czy Doktorantka pokusiłaby się jednak, chociaż o próbę wyjaśnienia, dlaczego właśnie mRNA białek Sm oraz mRNA 10 podjednostki polimerazy II RNA, były transkryptami o najdłuższym czasie retencji na terenie jądra komórkowego?

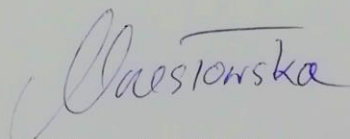
Wniosek Końcowy

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pani Mgr Magdy Rudzkiej spełnia wszystkie wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789), w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z 3. 07. 2018 (Dz.U. poz. 1669) i wnioskuję do Wysockiej Rady Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu o dopuszczenie Pani Mgr Magdy Rudzkiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Chciałabym podkreślić, że wysoko oceniam przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską pani mgr Magdy Rudzkiej, zarówno pod względem koncepcji, jak i wartości merytorycznej. Praca dotyczy stosunkowo nowego dla Nauki zagadnienia jakim jest potranskrypcyjna regulacja aktywności genów, poprzez retencję mRNA, czy pre-mRNA na terenie jądra komórkowego. **Wyniki, zawarte w rozprawie doktorskiej pani mgr Magdy Rudzkiej, dokumentujące istnienie zjawiska retencji transkryptów wybranych białek, jako mechanizmu potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów, w komórkach generatywnych rośliny nasiennej (mikrosporocytach modrzewia), o pulsacyjnej aktywności transkrypcyjnej, są nowe dla Nauki.** Co więcej, pokazano, że zróżnicowanie czasu retencji transkryptów wybranej puli białek oraz wykazano, że transkrypty ulegające retencji, po przetransportowaniu do cytoplazmy, są funkcjonalnymi mRNA, uczestniczącymi w translacji kodowanych przez nie białek. **Odnotowano także retencję transkryptów na terenie domen jądrowych, takich jak jąderko (mRNA i pre-mRNA), czy ciała Cajala (pre-mRNA), co stanowi nową, nie opisywaną wcześniej rolę, tych struktur w regulacji ekspresji genów.**

Na podkreślenie zasługuje także piękna strona dokumentacyjna pracy oraz dobrze napisany tekst rozprawy.

Biorąc wszystkie te aspekty pod uwagę wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani Mgr Magdy Rudzkiej stosowną nagrodą.



Dr hab. prof. UAM Magdalena Krzesłowska

