

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

Opis ogólny

Rozprawa doktorska Pani mgr Magdy Rudzkiej ma formę monografii i posiada typowy układ dla tej formy prac doktorskich. Rozprawa składa się z dziewięciu rozdziałów (Streszczenia, Wstępu, Celu pracy, Materiałów, Metod, Wyników, Dyskusji, Wniosków, Literatury), część z nich została podzielona dodatkowo na podrozdziały. Zamieszczono, także: wykaz używanych skrótów, informacje o źródłach finansowania badań oraz opublikowanych przez doktorantkę pracach, a także wykaz rycin oraz suplement.

Rozprawa liczy 162 stron tekstu, zawiera 29 rycin w tym tabele, schematy, wykresy oraz plansze ze zdjęciami. Bibliografia liczy 185 pozycji. Rozprawa została napisana klarownym, poprawnym językiem. Do pracy dołączono także płytę CD z dodatkowymi danymi.

Poprawność redakcyjna rozprawy

Układ pracy jest czytelny, nie mam zastrzeżeń co do stylu oraz szaty graficznej rozprawy.

Wartość naukowa i merytoryczna rozprawy

W pierwszej części rozprawy doktorantka wyczerpująco omówiła ekspresję genów kodujących białka (w tym mechanizm transkrypcji genów kodujących białka i eksport mRNP z jądra komórkowego do cytoplazmy), główne procesy związane z regulacją ekspresji genów w komórkach eukariotycznych, regulację ekspresji genów poprzez opóźnienie eksportu do cytoplazmy- retencję na terenie jądra komórkowego oraz regulację ekspresji genów na terenie cytoplazmy. Doktorantka omówiła, także mikrosporocyty modrzewia europejskiego jako model badawczy, wykazując zalety tego modelu oraz krótko wspominając prace, w których model ten był użyty. Dla mnie najciekawsze wydają się podrozdziały dotyczące regulacji ekspresji genów poprzez opóźnienie eksportu do cytoplazmy- retencji na terenie jądra komórkowego oraz regulacji ekspresji genów na terenie cytoplazmy.

Oceniając dysertację należy zwrócić szczególną uwagę na wagę wybranego zagadnienia. Rola jądra komórkowego jako magazynu mRNA jest słabo poznana. Dokładniejsze badania wykonano jak dotąd tylko na drożdżach oraz jednym gatunku paproci. Natomiast, badania

wykonane przez pracowników Zakładu Biologii Komórki UMK wskazują, iż w różnych typach komórek roślinnych, ilość poli(A) RNA na terenie jądra znacznie przewyższa jego ilość na terenie cytoplazmy, co sugerują retencję mRNA na terenie jądra komórkowego i co potwierdza niniejsza dysertacja.

W ocenie rozprawy naukowej najważniejszy jest oryginalny problem naukowy oraz jak problem ten został rozwiązany. Pani Magda Rudzka postawiła przed sobą bardzo ambitne zadanie: opisanie zjawiska retencji mRNA w pojedynczym cyklu syntezy, gromadzenia i transportu poli(A) RNA w generatywnych komórkach rośliny nagozalążkowej. Głównymi celami w recenzowanej rozprawie, było:

1. Identyfikacja 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. Weryfikacja w jakiej formie (dojrzałej, czy nie dojrzałej) transkrypty, ulegają retencji na terenie jądra komórkowego.

Pani Rudzka testowała hipotezę - retencja mRNA na terenie jądra komórkowego stanowi potranskrypcyjny mechanizm regulacji ekspresji genów niezbędnych w kolejnych etapach rozwoju komórki roślinnej.

By rozwiązać wspomniane problemy badawcze Doktorantka posłużyła się szeregiem technik biologii molekularnej wykonując następujące zadania badawcze: izolowała protoplasty, wykonała lokalizację białek i RNA, izolowała RNA, analizowała transkryptom w cyklu syntezy, gromadzenia i transportu poli(A) RNA, analizowała transkryptom cytoplazmatyczny, przygotowała biblioteki cDNA do sekwencjonowania oraz przeprowadziła sekwencjonowanie i analizę bioinformatyczną, przypisując białkom potencjalną funkcję. Należy zaznaczyć, iż wykonane analizy (praca z RNA) wymagały dużej staranności i wysiłku. Wyniki jak i część dokumentacyjna dysertacji cechują się wysoką jakością, co jest standardem w pracach wykonywanych w Zakładzie Biologii Komórki Katedry Biologii Komórkowej i Molekularnej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika.

Uważam, że Doktorantka w pełni rozwiązała oryginalny problem badawczy, jaki przed sobą postawiła.

Najważniejsze osiągnięcia

Otrzymane przez Doktorantkę wyniki potwierdzają, że retencja mRNA na terenie jądra komórkowego stanowi potranskrypcyjny mechanizm regulacji ekspresji genów niezbędnych w kolejnych etapach rozwoju komórki. Za najważniejsze osiągnięcia naukowe uznaję:

- Stwierdzenie, że transkrypty charakteryzują się różnym okresem retencji na terenie jądra komórkowego oraz miejscem ich gromadzenia.
- Stwierdzenie, że retencja mRNA na terenie domen jądrowych, takich jak jąderko (mRNA i pre-mRNA) czy ciała Cajala (pre-mRNA) stanowi nową, nie opisywaną wcześniej rolę w regulacji ekspresji genów.
- Wykazanie, że transkrypty o najdłuższym czasie retencji, przechowywane są zarówno w formie dojrzałej, jak i w formie niedojrzałej, z zachowaną/ymi sekwencjami intronowymi na terenie jądra komórkowego,
- Wykazanie iż transkrypty, które uległy retencji na terenie jądra komórkowego nie ulegają szybkiej degradacji, ale są eksportowane na teren cytoplazmy,
- Retencja mRNA metabolizmu podstawowego w nukleoplazmie i domenach jądrowych związana jest ze zmianami aktywności transkrypcyjnej, które zależne są od stanu kondensacji chromatyny.

Według Doktorantki retencja na terenie jądra komórkowego transkryptów kodujących białka stanowi nowy mechanizm regulacji ekspresji genów w komórkach generatywnych roślin nagonasiennych o pulsacyjnej aktywności transkrypcyjnej. Byłoby niezwykle interesujące, sprawdzić czy ten mechanizm zachodzi w komórkach generatywnych starych ewolucyjnie grup nagozalążkowych takich jak sagowce, zastrzalinowate i miłorzębowe.

Podczas czytania rozprawy nasunęło mi się kilka pytań:

Czy mutacje w komponentach kompleksu THO znane są z komórek ludzkich oraz czy mogą powodować zmiany prowadzące do powstania komórek nowotworowych?

Doktorantka wspomina o ciałach cytoplazmatycznych, czy mogłaby krótko omówić strukturę i rolę ciała Balbianiego.

W analizie dystrybucji wyników BLAST ryc. 16, w gatunkach roślin pojawia się karp (*Cyprinus carpio*), proszę o wyjaśnienie.

Doktorantka przeszukiwała bazę danych NCBI dla roślin zielnych, czy nie byłaby lepsza baza uwzględniająca rośliny drzewiaste?

Podsumowując stwierdzam, że dysertacja doktorska Pani mgr Magdy Rudzkiej spełnia warunki stawiane przed rozprawami doktorskimi i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na wysoki poziom przedstawionej dysertacji wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych o nagrodzenie Pani mgr Magdy Rudzkiej.

UNIwersytet Jagielloński
Instytut Botaniki
Zakład Cytologii i Embriologii Roślin
30-387 KRAKÓW, UL. GRONOSTAJOWA 9
tel./fax 12-664-51-04

