



Olsztyn, 21.02.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgra inż. Cezarego Odrzygóźdźia

pt. „Identyfikacja oraz wstępna charakterystyka białek odpowiedzialnych za międzykomórkowy transport kwasów nukleinowych u *Schmidtea mediterranea*”

wykonanej w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk PAN w Poznaniu, w Zakładzie Biologii Molekularnej i Systemowej pod kierunkiem prof. dr. hab. Marka Figlerowicza w roli promotora i dr Natalii Koralewskiej w roli promotora pomocniczego.

Praca doktorska mgra inż. Cezarego Odrzygóźdźia ma postać manuskryptu obejmującego łącznie 112 stron maszynopisu. Napisana została w układzie typowym dla prac doktorskich z zakresu dyscypliny nauk biologicznych. Składa się ze Wstępu (13 str.), poprzedzonego wykazem skrótów (1 str.), Celu pracy (1 str.), Materiału i Metod (29 str.), Wyników (41 str.), Dyskusji (6 str.), Wniosków (1 str.), Streszczenia w języku polskim i angielskim (po 1 str.), wykazu Literatury liczącego 109 pozycji oraz wykazu załączników (3 pozycje).

Krótki, przystępnie napisany, Wstęp sprawnie wprowadza czytelnika w zagadnienia będące przedmiotem rozprawy. Rozdział ten to syntetyczne przedstawione najważniejsze informacje dotyczące charakterystyki molekularnych podstaw interferencji RNA, ze zwróceniem szczególnej uwagi na białka transportowe dsRNA oraz organizm modelowy *Schmidtea mediterranea* będący materiałem badawczym pracy doktorskiej. Przedstawia szczególne cechy tego bezkręgowca predysponujące go do miana organizmu modelowego, opisując jego budowę, systematykę i wymogi środowiskowe. Rozdział napisany został w sposób interesujący i bardzo zwięzły. Moim zdaniem brakuje cytowania źródłowego podanej systematyki (str.17) i stosowania pojęć biologicznych: typ Platyhelminthes, rząd Tricladida, podrząd Continenticola, rodzina DugesIIDae, rodzaj *Schmidtea*. Należałoby także bardziej jeszcze podkreślić aspekt praktyczny wykorzystania *S. mediterranea* jako organizmu modelowego. Widać tu przygotowanie Doktoranta już do pisania publikacji.

„Celem pracy”, nakreślonym na tle aktualnych danych, była identyfikacja oraz charakterystyka funkcjonalna białek SID, które u *S. mediterranea*, zaangażowane są w pobieranie ze środowiska i międzykomórkowy transport kwasów nukleinowych. Sformułowano też 4 zadania badawcze, pozwalające na realizację zamierzonego celu.

Opis Materiału badawczego i zaprojektowanych eksperymentów jest zrozumiały i w wykonaniu prawidłowy. Jest to obszerna część dysertacji, wynikająca ze zrozumiałej rozbudowanej części eksperymentalnej bardzo szczegółowo opisanej.





Wyniki zostały przedstawione bardzo starannie, ich dokumentacja jest czytelna i estetyczna. Jestem pod ogromnym wrażeniem tego rozdziału rozprawy. Jakość i precyzja wykonania wszystkich analiz bioinformatycznych i laboratoryjnych to obraz warsztatu biotechnologa na wysokim poziomie.

Dyskusja została napisana w sposób wyczerpujący, poruszone zostało w niej wiele istotnych aspektów związanych z wynikami i ich odniesieniem do literatury przedmiotu. Na tle danych z piśmiennictwa mgr inż. Cezary Odrzygóźdź przeprowadza w rozdziale Dyskusja analizę własnych rezultatów, dyskutując po kolei wyniki każdego zadania badawczego. Najobszerniej, krok po kroku, omawia kolejno rolę i znaczenie zidentyfikowanych białek. Warte zauważenia są liczne pytania i wątpliwości kończące ten rozdział pracy, co jest ważnym aspektem pracy eksperymentalnej, w której nie ma oczywistych i ostatecznych odpowiedzi, a jest poszukiwaniem dalszych rozwiązań. Następnie na podstawie tego rozdziału Doktorant sformułował 7 wniosków. Wnioski są sformułowane prawidłowo i odpowiadają w pełni na postawione cele pracy.

Cytowana literatura liczy 109 pozycji, w dużej mierze są to publikacje z ostatnich lat, co również świadczy o aktualności zagadnienia. Stronę redakcyjną pracy oceniam pozytywnie.

OCENA MERYTORYCZNA ROZPRAWY

W ciągu ostatniej dekady *S. mediterranea* stał się idealnym modelem do zrozumienia biologii komórek macierzystych i procesu regeneracji u planarian. Jego wzrost popularności jest częściowo spowodowany m.in. łatwością, z jaką można go przechowywać w laboratorium, jego korzystne cechy genetyczne (tj. stosunkowo mały genom diploidalny), oraz jego w pełni zsekwencjonowany genom. Ponadto, istnieją zaawansowane metody analizy funkcji genów, w tym zdolność do przeprowadzania hybrydyzacji *in situ* na dużą skalę i badanie aktywności setek do tysięcy genów poprzez proste karmienie dsRNA specyficznych genów. Technologiczny postęp pomocny w badaniu *S. mediterranea* obejmuje genomikę, transkryptomikę (w tym *ang. single-cell RNA sequencing*), proteomikę, wysokoprzepustowe RNAi, platformy behawioralne (uczenie się i pamięć) oraz testy toksyczności leków. *S. mediterranea* może stać się doskonałym systemem do badań *in vivo* biologii i regeneracji. Publikacje kilku lat pokazały potencjał modelu badawczego organizmu wypławka, aby stać się także doskonałym systemem do badania odporności. Ostatnie doniesienia dotyczące badań mikrobiomu tego organizmu oraz układu żywiciel-patogen jeszcze bardziej zwiększają niesamowite możliwości tych badań. W literaturze wiele danych wskazuje na większą homologię genów wypławka do człowieka, przy ich braku w *Drosophila melanogaster* lub *Caenorhabditis elegans*. Co też Doktorant potwierdził w swoich badaniach białek Smed-





SID1-3. Badania tego typu mogą mieć znaczenie nie tylko poznawcze, ale też aplikacyjne, z myślą o uzyskiwaniu naturalnych lub też genetycznie modyfikowanych organizmów. Dlatego uważam problematykę podjętą w pracy doktorskiej mgr inż. Cezarego Odrzygóźdźcia za bardzo ważną.

Autor osiągnął wyznaczony cel pracy. Najwartościowsze jej wyniki, zdaniem recenzenta, to;

1. Charakterystyka homologów białek Smed-SID1-3 w *S. mediterranea*. Potwierdzenie funkcji tych białek, odpowiedzialnych jednocześnie za transport dsRNA i cholesterolu.

2. Wykazanie zaangażowania białek Smed-SID1-3 w pobieranie dsRNA ze światła jelita i/lub ogólnoustrojowy transport dsRNA. Stwierdzenie podwyższonej ekspresji genów: *Smed-sidt1* i *Smed-sidt3* odpowiednio: w parenchymie i w komórkach zlokalizowanych na obwodzie, natomiast transkryptu *Smed-sidt2* w jelicie.

3. Potwierdzenie funkcjonalności białek Smed-SIDT1-3 w modelu *in vivo*. Białka są zaangażowane w transport dsRNA (~200 pz) z jelita i/lub między komórkami, umożliwiając systemowy efekt RNAi.

4. Potwierdzenie funkcjonalności białek Smed-SIDT1-3 w modelu *in vitro* w układzie heterologicznym *S2 D. melanogaster*. Białka Smed-SIDT1-3 zwiększają zdolność komórek do pobierania siRNA o długości 25 pz.

Reasumując wysoko oceniam rozprawę doktorską mgr inż. Cezarego Odrzygóźdźcia. Uzyskane wyniki są niewątpliwie cenne i znacząco poszerzają naszą wiedzę na temat białek transportowych dsRNA u modelowego organizmu *S. mediterranea*. Odpowiednio dobrana metodologia oraz różnorodność przeprowadzonych analiz świadczą o kompleksowym podejściu do rozwiązania problemu badawczego. Zasluguje na podkreślenie dojrzałość naukowa Doktoranta w prowadzeniu całego procesu badawczego, od charakterystyki, analizy bioinformatycznej, porównania trzech homologów białkowych z innymi organizmami. Ponadto konstruowanie całego eksperymentu, prezentacja wyników i ich analiza świadczy o dojrzałości i samodzielności Doktoranta w pracy laboratoryjnej co na pewno będzie przełożeniem w publikowaniu uzyskanych wyników w dobrym periodyku naukowym.

KOMENTARZE, PYTANIA I ZAGADNIENIA DO DYSKUSJI

Po przeczytaniu przedstawionej mi do recenzji pracy nasunęły mi się następujące komentarze/ zagadnienia do dyskusji, proszę więc Doktoranta o ustosunkowanie się do nich:

- Co zdaniem Doktoranta było największym osiągnięciem Jego pracy i dlaczego?
- Proszę o opinię na temat praktycznego, aplikacyjnego aspektu otrzymanych wyników rozprawy doktorskiej. Co dalej z wynikami badań?





- Czy widzi Pan możliwość wykorzystanie atrybutów eksperymentalnych wolno żyjących *S. mediterranea* do badań pasożytniczych gatunków rodzaju *Schistosoma*? Czy mógłby Pan wskazać na osobliwości czy też wspólne cechy dla obu gromad płazińców, które można wykorzystać w leczeniu schistosomatoz?

WNIOSKI KOŃCOWE

Pragnę podkreślić, że wysoko oceniam dysertację mgra inż. Cezarego Odrzygóźdźcia i stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) oraz w Sposobie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (uchwała Rady Naukowej ICHB PAN nr 128/2022/Internet z dnia 24 października 2022 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie mgra inż. Cezarego Odrzygóźdźcia do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Dr hab. Elżbieta Łopieńska-Biernat, prof. UWM

