

04 luty 2026

Dr hab. inż. Magdalena Pawełkowicz, prof. SGGW
Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Instytut Biologii; SGGW w Warszawie
e-mail: magdalena_pawelkowicz@sggw.edu.pl
telefon (22) 59 321 76

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Anastasii Satyr

Przedstawiona do oceny recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Anastasii Satyr jest zatytułowana „*Variation of the receptor-like protein gene family in the Arabidopsis thaliana genome revealed by nanopore sequencing and de novo assemblies*” została przygotowana w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, w formie monografii. Praca powstała pod kierunkiem dr hab. Agnieszki Żmieńko, prof. ICHB PAN.

Szkoła Główna
Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Biologii
Katedra Genetyki, Hodowli i
Biotechnologii Roślin

ul. Nowoursynowska 159
02-776 Warszawa
+48 22 59 321 51
kghibr@sggw.edu.pl
www.sggw.pl

Od strony formalnej rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim w dyscyplinie nauki biologiczne i została przygotowana w formie klasycznej rozprawy monograficznej. Praca zawiera komplet obligatoryjnych elementów, tj. stronę tytułową, streszczenie w języku angielskim i polskim, spis treści, wykaz skrótów, wstęp, jasno wyodrębnione cele badań, rozdział poświęcony materiałom i metodom, część wyników, dyskusję, wnioski, bibliografię oraz materiały uzupełniające (Appendix, Supplementary Data). Układ pracy jest logiczny i przejrzysty, a podział na rozdziały i podrozdziały zachowuje właściwą kolejność oraz konsekwentną numerację; spis treści jest kompletny i w pełni zgodny z zawartością rozprawy. Praca ma 126 stron, jest adekwatna do zakresu przeprowadzonych badań i nie wskazuje ani na nadmierne skrócenie, ani na nieuzasadnione rozbudowanie tekstu, przy czym materiał uzupełniający został poprawnie oddzielony od części głównej, co sprzyja czytelności opracowania.

Rozprawa została napisana w języku angielskim, z zachowaniem naukowego, precyzyjnego i spójnego stylu, a streszczenie w języku polskim wiernie oddaje treść pracy i jest poprawne językowo. Praca została przygotowana bardzo starannie pod względem edytorskim,

zachowano jednolity krój i wielkość czcionki, konsekwentne formatowanie nagłówków, prawidłowe odstępów między akapitami oraz jednolitą numerację stron, tabel i rycin; wszystkie figury i tabele posiadają poprawne podpisy i są faktycznie przywołane w tekście. Rozprawa składa się z sześciu głównych rozdziałów merytorycznych (Wstęp, Cele badań, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski) i zawiera 41 rycin (Figure 1 – Figure 41) oraz 14 tabel (Table 1 – Table 14), poprawnie rozmieszczonych i powiązanych z omawianą treścią. Bibliografia obejmuje 192 pozycje literaturowe i została opracowana starannie, a wszystkie cytowania w tekście są spójne z wykazem piśmiennictwa. Analiza literatury wskazuje, że znaczna część cytowań pochodzi z ostatnich lat, a dobór źródeł jest aktualny i adekwatny do tematyki pracy, co świadczy o dobrej orientacji Autorki w stanie badań. Nie stwierdzono uchybień formalnych wymagających zasadniczych korekt, a ewentualne drobne kwestie redakcyjne mają charakter kosmetyczny i nie wpływają na formalną ocenę rozprawy.

Przechodząc do oceny merytorycznej, należy podkreślić, że rozprawa doktorska dotyczy szczegółowej analizy zmienności strukturalnej genomów wybranych ekotypów *Arabidopsis thaliana*, ze szczególnym uwzględnieniem genów z rodziny *Receptor-Like Protein (RLP)*, pełniących istotną rolę w mechanizmach odporności roślin na stres biotyczny. Praca wpisuje się w aktualny nurt badań nad naturalną zmiennością genomową oraz wykorzystaniem sekwencjonowania długich odczytów do identyfikacji wariantów strukturalnych, które są w dużej mierze niedostępne dla analiz opartych na sekwencjonowaniu krótkich odczytów. Problem badawczy został sformułowany jasno i logicznie, a jego znaczenie naukowe zostało przekonująco uzasadnione zarówno we wstępie teoretycznym, jak i w dalszych częściach pracy. Autorka kompetentnie przedstawiła aktualny stan wiedzy dotyczący zmienności strukturalnej genomów roślin, mechanizmów odporności PTI i ETI oraz funkcji receptorów powierzchniowych, w tym RLP, prowadząc narrację od ogólnych zagadnień do jasno zdefiniowanej luki badawczej dotyczącej niedostatecznego poznania zmienności strukturalnej genów *RLP* w ujęciu opartym na *de novo* składanych genomach. Cele pracy zostały sformułowane precyzyjnie i obejmowały m.in. uzyskanie wysokiej jakości złoża genomów wybranych ekotypów, ich wieloaspektową ocenę jakości oraz identyfikację i charakterystykę wariantów strukturalnych w obrębie genów *RLP* i klastrów.

Zastosowane metody badawcze są nowoczesne i adekwatne do postawionych celów. Autorka wykorzystwała sekwencjonowanie nanopore do uzyskania długich odczytów, a następnie przeprowadziła *de novo* składanie genomów z użyciem dwóch algorytmów (*canu* i *flye*), co pozwoliło na krytyczne porównanie jakości uzyskanych złoża. Na szczególne podkreślenie zasługuje bardzo rzetelna ocena jakości złoża, obejmująca analizę ciągłości (NG50, LG50), kompletności (BUSCO, k-mer completeness) oraz poprawności (QV, Error Rate), która umożliwiła wykazanie, że mimo wysokiej jakości złoża w obrębie ramion chromosomów, regiony powtórzone w obszarach takich jak centromery i telomery, nadal stanowią istotne wyzwanie metodologiczne. Przykładem takiego podejścia jest szczegółowe porównanie reprezentacji powtórzeń CEN180 oraz elementów ATHILA pomiędzy złożami *canu* i *flye*, które zostało jasno zilustrowane i krytycznie omówione w pracy.

Część wynikowa stanowi centralny element rozprawy i została opracowana w sposób obszerny oraz logicznie uporządkowany. Autorka przedstawiła szczegółową charakterystykę zmienności strukturalnej genów *RLP*, obejmującą delekcje, insercje, duplikacje oraz rearanżacje genomowe. Szczególnie wartościowe są analizy konkretnych klastrów genowych, takich jak *RLP47–RLP50*,

gdzie wykazano zarówno duplikację genu *RLP47* w jednym ekotypie, jak i insercje transpozonów w innym, a także analizy klastrów *RLP39–RLP42* oraz *RLP24–RLP28*, w których porównano organizację genomową pomiędzy ekotypami oraz względem genomu referencyjnego. Praca w przekonujący sposób pokazuje, że zmienność genów *RLP* nie ogranicza się do pojedynczych mutacji punktowych, lecz często obejmuje większe fragmenty genomu i jest silnie powiązana z aktywnością elementów transpozycyjnych. Autorka rozszerzyła swoje analizy o kontekst populacyjny, wykazując zróżnicowanie liczby kopii wybranych genów *RLP* w odniesieniu do danych obejmujących ponad tysiąc akcesji *Arabidopsis thaliana*. Dyskusja wyników została przeprowadzona w sposób krytyczny i świadomy. Autorka trafnie interpretuje uzyskane dane, porównuje je z wcześniejszymi badaniami opartymi na sekwencjonowaniu krótkich odczytów i jasno wskazuje ograniczenia własnych analiz, w tym brak pełnej rozdzielczości w regionach powtórzonych oraz brak bezpośrednich danych funkcjonalnych.

Do najważniejszych mocnych stron pracy należy nowoczesne i dobrze uzasadnione podejście metodologiczne, bardzo rzetelna i wieloaspektowa ocena jakości złoża genomowych, wysoki stopień samodzielności badawczej Autorki oraz szczegółowe, oparte na konkretnych przykładach analizy zmienności strukturalnej genów i klastrów *RLP*. Istotnym atutem jest także umiejętne powiązanie obserwowanej zmienności z aktywnością transpozonów oraz osadzenie wyników w szerokim kontekście ewolucyjnym i populacyjnym. Praca wnosi realny wkład w badania nad genomiką odporności roślin i pokazuje potencjał sekwencjonowania długich odczytów w tego typu analizach.

Do słabszych stron rozprawy należy zaliczyć brak bezpośrednich analiz funkcjonalnych, które pozwoliłyby jednoznacznie powiązać zaobserwowane warianty strukturalne genów *RLP* z różnicami fenotypowymi w odporności roślin. W niektórych fragmentach pracy szczegółowy opis aspektów technicznych i bioinformatycznych dominuje nad syntetycznym omówieniem ich znaczenia biologicznego, co może utrudniać odbiór pracy czytelnikowi mniej zorientowanemu w metodach genomowych. Ograniczeniem jest również relatywnie niewielka liczba ekotypów poddanych pełnemu *de novo* składaniu genomów, choć Autorka świadomie kompensuje to odniesieniami do danych populacyjnych.

W toku lektury rozprawy pojawia się kilka zagadnień, które wymagają dodatkowego wyjaśnienia lub krótkiego doprecyzowania przez Autorkę. Po pierwsze, wskazane byłoby omówienie, w jaki sposób różnice w jakości i reprezentacji regionów powtórzonych pomiędzy złożeniami genomów uzyskanymi algorytmami *canu* i *flye* wpływały na identyfikację oraz interpretację wariantów strukturalnych genów *RLP*, zwłaszcza w obrębie klastrów genowych, które często zlokalizowane są w genomowym kontekście bogatym w sekwencje powtórzone. Po drugie, Autorka wykazała istotny związek pomiędzy zmiennością strukturalną genów *RLP* a obecnością elementów transpozycyjnych; celowe byłoby pogłębienie tej interpretacji poprzez wskazanie mechanizmów molekularnych, które mogły odpowiadać za obserwowane duplikacje oraz rearanżacje genomowe. Po trzecie, w pracy przedstawiono liczne przykłady złożonych rearanżacji w obrębie klastrów genowych *RLP*; w tym kontekście wskazane byłoby doprecyzowanie kryteriów, które pozwalały jednoznacznie odróżnić rzeczywiste warianty strukturalne od potencjalnych artefaktów wynikających z ograniczeń procesu *de novo* składania genomów. Po czwarte, pomimo szczegółowej charakterystyki zmienności strukturalnej genów *RLP*, rozprawa nie obejmuje bezpośrednich analiz funkcjonalnych; warto zatem wskazać, które z zaobserwowanych wariantów Autorka uznaje za

najbardziej obiecujące z punktu widzenia dalszych badań funkcjonalnych oraz jakie podejścia eksperymentalne mogłyby zostać zastosowane w celu weryfikacji ich znaczenia biologicznego. Przedstawione powyżej kwestie nie podważają zasadniczych wniosków rozprawy i mają charakter doprecyzowujący; ich wyjaśnienie przez Autorkę w trakcie publicznej obrony pozwoli na pełniejsze omówienie uzyskanych wyników i zastosowanego podejścia badawczego.

Podsumowując, rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania formalne i merytoryczne stawiane pracom doktorskim w dyscyplinie nauki biologiczne. Praca prezentuje wysoki poziom naukowy, opiera się na nowoczesnych metodach badawczych i wnosi oryginalny wkład w badania nad zmiennością strukturalną genów odporności u roślin. Mocne strony rozprawy zdecydowanie przeważają nad jej ograniczeniami, które mają charakter wtórny i nie podważają wartości uzyskanych wyników. Rozprawa dowodzi, że Autorka posiada odpowiednie przygotowanie teoretyczne i metodologiczne oraz zdolność samodzielnego prowadzenia zaawansowanych badań naukowych, co uzasadnia dopuszczenie jej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

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.) oraz w Sposobie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu (uchwała Rady Naukowej ICHB PAN nr 40/2025/Internet/RN_140 z dnia 18 marca 2025 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie Anastasii Satyr do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Magdalena Pawethoriz