

90-363 Łódź, ul. Sienkiewicza 112
Centrala: (0-42) 680-32-00
Dyrektor: (0-42) 680-32-18
Z-ca Dyrektora ds. Naukowych: (0-42) 680-32-14
Sekretariat Naukowy: (0-42) 680-32-32
e-mail: sncbmm@cbmm.lodz.pl



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Prof. dr hab. Barbara Nawrot

5 grudnia 2023 r.

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych
Polskiej Akademii Nauk
Dział Chemii Bioorganicznej
Ul. H. Sienkiewicza 112
90-363 Łódź
Tel. +48-604 783945, +48 42 6308 248
Email: barbara.nawrot@cbmm.lodz.pl
www.cbmm.lodz.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Marcina Ryczka pt.:
„Badania strukturalne RNA o znaczeniu w patogenezie chorób
neurodegeneracyjnych”**

Niniejszą recenzję sporządziłam w związku z powołaniem mnie przez Radę Naukową Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN z dnia 27 września 2023 r. na recenzenta rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Marcina Ryczka pt.: „Badania strukturalne RNA o znaczeniu w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych”. Badania te lokują się w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne. Rozprawa doktorska Pana mgr Ryczka dotyczy poznania struktury cząsteczek RNA zawierających powtórzenia kilkunukleotydowe, stanowiących podstawę molekularną chorób neurodegeneracyjnych. Poznanie struktury tytułowych RNA stwarza szanse na rozwinięcie nowych terapii celowanych i stanowi nowoczesny i obiecujący kierunek badań naukowych.

Ocena formalna

Badania opisane w przedłożonej do recenzji rozprawie doktorskiej zostały wykonane w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN pod kierunkiem prof. dr hab. Agnieszki Kiliszek, prof. ICHB PAN w ramach realizacji projektu NCN SONATA BIS 2017/26/E/NZ1/00950: „Opracowanie metodologii umożliwiającej stabilizację RNA w formie spinki do badań krystalograficznych”, kierowanego przez Promotorkę rozprawy.

Rozprawa doktorska jest objętościowo niewielka; opisana na łącznie 120 stronach tekstu, zawiera 35 rycin i 9 tabel, wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Cel pracy, Wprowadzenie i rozdział Materiały i Metody (łącznie 60 stron). Zasadniczą część rozprawy stanowi 21-stronicowy opis Wyników oraz 10-stronicowa Dyskusja i Wnioski. Na pozostałych 17 stronach

umieszczono bardzo obszerny spis literaturowy liczący aż 246 pozycji, a jedną z cytowanych prac jest publikacja z pierwszym autorstwem mgr Marcina Ryczka, opublikowana w roku 2022 w czasopiśmie z listy JCR *Applied Sciences*, która powstała w trakcie realizacji niniejszej rozprawy a raportuje przegląd metod syntezy RNA na dużą skalę. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia wymagania rozprawy monograficznej stanowiącej dzieło naukowe ze wszystkimi niezbędnymi informacjami i danymi eksperymentalnymi.

Ocena merytoryczna

Cel rozprawy

Cel rozprawy został sformułowany ogólnie, jako poznanie struktur przestrzennych cząsteczek RNA zawierających powtórzenia nukleotydowe, mających znaczenie w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych i ewentualnie zaproponowanie potencjalnego podejścia terapeutycznego w oparciu o cząsteczkę stabilizującą strukturę patogennego RNA. Doktorant przedstawił dwa szczegółowe cele, z których pierwszy to opracowanie protokołu produkcji RNA o strukturze spinki, a także stabilizacja tych cząsteczek do krystalizacji oraz wyznaczenie ich struktury przestrzennej. Drugi cel to wyznaczenie struktury przestrzennej kompleksu RNA o sekwencji G_2C_4 , także w kompleksie z syntetyczną cząsteczką ANP77.

Wprowadzenie

Wprowadzenie do tematyki rozprawy doktorskiej zawiera podstawowe informacje dotyczące chorób neurodegeneracyjnych, których terapia, pomimo poznania ich podstaw molekularnych, jest mało skuteczna, bo jedynie objawowa i wciąż kosztowna. Dlatego też opracowanie skutecznych podejść terapeutycznych dla chorób neurodegeneracyjnych stanowi wielkie wyzwanie badawcze. Doktorant omawia podstawy molekularne chorób neurodegeneracyjnych wywoływanych ekspansją powtórzeń nukleotydowych w pierwotnych transkryptach mRNA, zwracając uwagę na różną lokalizację tych powtórzeń oraz na różne mechanizmy toksyczności fragmentów zawierających powtórzenia. Z uwagi na fakt, że drugorzędowa struktura cząsteczek RNA, a co za tym idzie także ich struktura trzeciorzędowa, mogą zmieniać się w sposób dynamiczny w zależności od warunków wewnątrzkomórkowych, funkcja biologiczna RNA może być zróżnicowana i prowadzić do różnorodnych zmian patologicznych. Doktorant opisuje strukturę spinek RNA z różnymi powtórzeniami, głównie trójnukleotydowymi. W tym momencie warto podkreślić, że znaczny wkład w uzyskanie wiedzy o strukturach RNA z różnego rodzaju powtórzeniami nukleotydowymi wnieśli badacze z macierzystego instytutu, w tym także promotorka rozprawy, dr hab. Agnieszka Kiliszek.

W niniejszej rozprawie zainteresowania Doktoranta skupiają się na mutacji w genie *C9orf72*, polegającej na występowaniu nadmiernych powtórzeń sześci nukleotydowych, prowadzącej do dwóch schorzeń neurodegeneracyjnych - układu ruchu ASL (stwardnienie zanikowe boczne) i demencji FTD (otępienie czołowo-skroniowe). DNA i RNA oraz ich hybrydy zawierające powtórzenia G_4C_2 tworzą struktury G-tetrapleksowe, podczas gdy komplementarne fragmenty z powtórzeniami G_2C_4 krystalizują w postaci struktury dwuniciowej helisy typu A z powtarzającymi się jednostkami czterech par zasad Watsona-Cricka GC/CG oddzielonymi dwiema tandemowymi parami C-C. Tak więc, ze względu na zmienną budowę fragmentów powtórzeń nukleotydowych strukturalnie zróżnicowane cząsteczki RNA wykazują odmienne właściwości wiązania białek obecnych w systemie komórkowym. Mam tutaj uwagę odnośnie trochę niezręcznego układu części literaturowej, a

mianowicie w jego centralnej części zawarty jest fragment o metodach pozyskiwania cząsteczek RNA do badań krystalograficznych, trochę oderwany od rozważań podstaw chorób neurodegeneracyjnych opisywanych przed i po tym fragmencie. Rozważania na temat pozyskiwania RNA mogłyby być umieszczone na końcu części literaturowej wraz z opisem liganda bis-1,8-naftyrydynowego, użytego w niniejszej rozprawie jako związek wiążący się do niesparowanych zasad nukleinowych w dwuniciowym kompleksie RNA.

Podsumowując, w tej części rozprawy Doktorant przedstawił najbardziej istotne informacje leżące u podstaw zagadnień odnoszących się do badań eksperymentalnych rozprawy, odniósł się do bogatej literatury przedmiotu i wykazał swoją wiedzę teoretyczną zarówno w zakresie molekularnych podstaw chorób wynikających z ekspansji powtórzeń nukleotydowych jak i zagadnień związanych z syntezą i niekanonicznymi strukturami RNA.

Tym nie mniej, z racji pełnienia obowiązków recenzenta, pragnę Doktorantowi zwrócić uwagę na pewne niezręczności i nieścisłości w tekście Wprowadzenia, z których niektóre nie wymagają dyskusji podczas obrony.

Tak więc,

- ciekawi mnie jaki jest powód, że „choroby neurodegeneracyjne dotyczą aż 50 milionów ludzi na całym świecie, głównie w krajach o niskich i średnich dochodach [10].” Str. 16

- merytorycznie niepoprawne jest zdanie „RNA dłuższy niż 40 nukleotydów powinien być syntetyzowany na drodze transkrypcji *in vitro* przy użyciu rybozymów” str. 12. Transkrypcja *in vitro* nie zachodzi w obecności rybozymów, a enzymu białkowego

- co Autor miał na myśli pisząc, że „Grupa hydroksylowa przy atomie węgla 2' RNA wpływa na inną konformację cukru” str. 22

- czy rozdział mieszanin RNA metodami elektroforezy i HPLC uzależniony jest tylko od „długości” cząsteczki? Str. 27

- niezręczne są wyrażenia „enzym odpada” str. 27; funkcja/grupa „chroniona” a nie „blokowana” (str. 33); antysensowy i sensowy, a nie antysensowny i sensowny; „zamykanie” pewnie jako capping (str. 34); „żeli” a nie „żelów”

- cytowanie własnej pracy (ref. 78) dla opisu schematu hydrolizy RNA w obecności rybozymu jest niezręczne (str. 29, 31). Tutaj powinien być odnośnik do oryginalnej pracy, np. Doherty & Doudna (ref. 90). Podobnie mają się niektóre inne odniesienia, gdzie cytowany jest ref. 78

- Nieprecyzyjne jest stwierdzenie, że „Synteza chemiczna w fazie stałej z wykorzystaniem zautomatyzowanego syntetyzera została opracowana przez Bruce’a Merrifielda i jest stosowana do syntezy kwasów deoksyrybonukleinowego i rybonukleinowego [109,110]. Tak naprawdę to jest to prawda, ale zwodniczo napisana. Powinno ono brzmieć np. „Synteza chemiczna na stałym nośniku została oryginalnie opracowana przez Bruce’a Merrifielda do syntezy peptydów [109], a następnie zaadaptowana do syntezy oligonukleotydów DNA i RNA [110].”

- opis struktury amidofosforynu nukleozydu używanego jako monomer do syntezy RNA (Ryc. 12) jest błędny. Funkcja fosforynowa (a nie fosforanowa) jest chroniona za pomocą grupy 2-cyanoetylowej, a reszta N,N,N',N'-tetraizopropylowa stanowi integralną część tytułowego amidofosforynu.

- opis Ryc. 13 jest również błędny. To nie „amidofosforyn (jest) przyłączony do stałego podłoża” a utlenieniu ulega funkcja fosforynowa a nie fosfinowa – str. 34

- proszę o wyjaśnienie jak „dwa krótsze syntetyczne łańcuchy RNA można „połączyć” za pomocą ligazy T4 RNA” (str. 35)

- warto używać poprawnego sformułowania nie zrównując pojęcia „sekwencja” z „RNA o sekwencji” jak np. w Ryc. 16, gdzie zamiast „Struktura krystaliczna sekwencji zawierającej cztery powtórzenia G₂C₄” powinno być „Struktura krystaliczna RNA o sekwencji zawierającej cztery powtórzenia G₂C₄.....”. Podobna uwaga odnośnie tytułu Tabeli 3.

Rozdział Materiały i Metody podaje wszystkie niezbędne informacje związane z preparatyką RNA i zastosowanymi metodami analitycznymi. Doktorant posiada umiejętność syntezy RNA zarówno metodą zautomatyzowanej syntezy na fazie stałej jak i metodą transkrypcji *in vitro*. Zna metody oczyszczania i izolowania RNA, jest doświadczony w zakresie badań oddziaływania RNA z białkami metodą EMSA, a przede wszystkim posiadał umiejętność krystalizacji RNA. Do tej części mam jedynie kilka drobnych uwag odnoszących się do żargonowych lub nieściśłych określeń typu „Oligomery strącałem 1 objętością izopropanolu (w stosunku do objętości RNA)”, „Fazę wodną następnie strącałem izopropanolem”, czy „Żel wizualizowałem używając toluidyny”.

Omówienie wyników i ich dyskusja stanowią zasadniczą część rozprawy. Doktorant samodzielnie przeprowadził nadekspresję i izolację trzech białek niezbędnych do przeprowadzenia planowanych badań, w tym polimerazy RNA z faga T7 i ligazy z faga T4 oraz białka U1a wiążącego RNA. Wykonał też syntezę kilku cząsteczek RNA według dwóch protokołów. Dla krótkich RNA zawierających motywy powtórzeń nukleotydowych zastosował metodę chemiczną, a dla dłuższych wariantów metodę enzymatyczną. Ponieważ obydwie te metody są rutynowe, wykonywane według szczegółowo opracowanych schematów, wymagały jedynie adaptacji do warunków tutejszego laboratorium. Tym nie mniej Doktorant opisał poszczególne kroki syntezy i metody oczyszczania produktów syntezy chemicznej RNA, prowadzonej w schemacie DMT-ON lub DMT-OFF. Czytając poszczególne opisy odnosi się wrażenie, że tematyka syntezy chemicznej jest słabszą stroną Doktoranta. Dało się to zauważyć podczas lektury sekcji Wprowadzenie i widać to także tutaj. Np. w tabeli 4 wymieniającej etapy izolacji/oczyszczania RNA zabrakło etapu usuwania grup ochronnych z zasad nukleinowych i grupy fosforanowej. Także oczyszczanie RNA nie odbywa się „za pomocą” tylko „na” lub „w żelu” poliakrylamidowym. Przy opisie oczyszczania RNA metodą HPLC ważne jest zaznaczenie, jakiej kolumny użyto. Pytanie: czy faktycznie profil elucji RNA o długości 43 nt (Ryc. 20C) odnosi się do RNA otrzymanego w trybie DMT-ON? Czy profile A i B tej samej ryciny przedstawiają RNA po syntezie w dwóch różnych trybach? Jeśli tak, to RNA otrzymany w trybie DMT-ON powinien być zanalizowany także po dodatkowej deprotekcji, a takiej analizy brak. Proszę o wyjaśnienie, co to znaczy „HPLC w warunkach denaturujących” (str. 83)? Poza tym mam uwagę generalną - wymaganiem dla potwierdzenia struktury RNA, zarówno krótkich jak i długich, jest zaprezentowanie widm / danych analizy metodą spektrometrii mas LC-MS, czy też TOF-MS. Czy takowa analiza była wykonana i jeśli tak, proszę o przedstawienie danych w czasie obrony.

Drugim sposobem otrzymywania RNA była transkrypcja *in vitro*, z użyciem polimerazy RNA z faga T7. Doktorant wykonał szereg badań zmierzających do otrzymania RNA o ściśle zdefiniowanej sekwencji i

długości łańcucha. Wykorzystał przy tym katalityczne cząsteczki kwasów nukleinowych o strukturze rybozemu typu głowa młotka lub spinka do reakcji transestryfikacji zachodzącej w specyficznym miejscu łańcucha polinukleotydowego. Pomimo, że otrzymał trzy różne RNA z rybozymami na 3'-końcu, lub 3'- i 5'-końcach, to nie udało się otrzymać jednorodnych chemicznie produktów, przydatnych do dalszych etapów badań. Sukcesem natomiast zakończyły się próby transkrypcji *in vitro* na matrycy DNA zawierającej dwie jednostki 2'-OMe na 5'-końcu nici antysensowej. Ponadto, użycie GMP obok jednostek NTP zapewniło wprowadzenie na 5'-koniec łańcucha RNA reszty 5'-O-fosforanu guanozyny. Tak przygotowane oligonukleotydy RNA o długości 51, 54 i 81 nukleotydów zawierające, odpowiednio, 11, 12 i 21 powtórzeń CUG zostały poddane reakcji cyrkularyzacji. Ponieważ Doktorant nie przedstawił analizy elektroforetycznej otrzymanych produktów, proszę o wyjaśnienie szczegółów reakcji ligacji końców RNA: (i) czy była używana matryca DNA? (ii) Czy była wykonana analiza elektroforetyczna produktów? (iii) Czy są dowody na utworzenie produktów o pożądanej strukturze? Pomimo, że Doktorant wykazał jednoznacznie, że otrzymane RNA wiążą się do białka U1a, to nie powiodły się próby krystalizacji kompleksów, nawet przy zastosowaniu różnych proporcji RNA do białka (1:1, 1:2 lub 1:3) czy też trzech różnych temperatur. **Tak więc, pierwszy cel rozprawy, polegający na opracowaniu protokołu produkcji RNA o strukturze spinki, stabilizacji tych RNA do krystalizacji oraz wyznaczenie struktury przestrzennej zaprojektowanych cząsteczek RNA nie do końca został zrealizowany**, a być może mógłby zostać osiągnięty gdyby podjęto kolejne próby krystalizacji. Moim zdaniem sprawdzenie tylko 192 różnych warunków krystalizacji nie było wystarczające przy tak znacznym wysiłku włożonym w uzyskanie modeli do badań. Podobnie, dosyć sceptycznie oceniam nieudaną próbę zbadania struktury kompleksów CUG11, CUG12 i CUG21 z białkiem U1a w różnych stężeniach za pomocą techniki cryo-EM, wiedząc, że dotychczas tą techniką udało się zbadać jedynie znacznie większe cząsteczki RNA i to z niezbyt dużą rozdzielczością.

W przeciwieństwie do wyżej opisanych niepowodzeń **drugi cel projektu został osiągnięty i uzyskano nowe, oryginalne wyniki naukowe**. W badaniach tych Doktorant podjął się wyznaczenia struktury przestrzennej kompleksu RNA o sekwencji G₂C₄ z syntetyczną cząsteczką ANP77. Swoje uwagi odnośnie syntezy opisałam wcześniej, dlatego teraz skupię się jedynie na uzyskanych wynikach. Cząsteczka o sekwencji G₂C₄ jest fragmentem antysensowego mRNA dla białka generującego stwardnienie zanikowe boczne oraz otępienie czołowo-skroniowe. Doktorant z powodzeniem przeprowadził krystalizację syntetycznie otrzymanego 6-nukleotydowego RNA, także w mieszaninie z ligandem ANP77. Niestety, nie pochwalił się w rozprawie fotografią otrzymanych kryształów, a szkoda. Ich strukturę rozwiązał z rozdzielczością, odpowiednio 1,1 i 1,58 Å. Wykazał, że w komórce elementarnej znajdują się cztery nici RNA, ustawione względem siebie w bardzo interesujący sposób, a mianowicie tworzą tetramer, w którym dupleks Watsona-Cricka nici A i B wiąże się z dupleksem W-C nici C i D, a dupleksy te oddziałują ze sobą poprzez utworzenie czterech par Hoogsteena - dwóch reszt C z nici B z dwiema resztami G z nici D oraz dwóch reszt C z nici C z dwiema resztami G z nici A. Interesujący jest wynik pokazujący, że ligand o strukturze dwóch oddziałujących ze sobą warstwowo pierścieni 2-amino-1,8-naftyrydonu połączonych linkerem alkilowym, tworzy dwie pseudokanoniczne pary zasad z dwiema terminalnymi resztami cytydyn jednego z dupleksów. Natomiast drugi koniec z dwiema resztami cytydyn zaangażowany jest w oddziaływanie wyższego rzędu, utworzone pomiędzy kolejnymi tetramerami w sieci krystalicznej. Podobne oddziaływanie pomiędzy tetramerami zostały zidentyfikowane dla kryształu bez liganda. Tutaj Doktorant bardzo skrupulatnie opisał wszystkie zidentyfikowane kontakty i przeanalizował tryplety typu C- C⁺ · C tworzące się pomiędzy tetramerami w sieci krystalicznej, w których jedna reszta cytozyny jest protonowana i poprzez trzy wiązania wodorowe oddziałuje z resztą C z sąsiedniej nici, tak jak to zostało pokazane na Ryc. 29. Dokładne

fragmenty struktury RNA G₂C₄ i kompleksu G₂C₄-ANP77 zostały pokazane na rycinach 26-33. Finalnie Doktorant przeprowadził badania termodynamicznej trwałości cząsteczki RNA oraz jej kompleksu z ligandem ANP77 podczas przejścia kompleksów od formy tetrapleksu do formy liniowej. Badania zostały wykonane za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC). Wykazał, że trwałość kompleksów jest zależna zarówno od pH roztworu jak i od obecności liganda. Najbardziej trwałe okazały się kompleksy w najniższym pH (5,26), co sugeruje wzrost trwałości struktur spowodowany protonowaniem niektórych reszt cytozyn i tworzenia wcześniej zidentyfikowanych trypletów C. Poza tym, w badanych strukturach występują tryplety typu C⁺ · G-C, których tworzenie jest również związane z protonowaniem reszty cytozyny i prawdopodobnie z tworzeniem tzw. i-motywu. W pH nieco wyższym, a mianowicie przy wartości 6.0, Doktorant zauważył dwa przejścia w profilu DSC:, wysokotemperaturowe dla dysocjacji struktury tetrameru i niskotemperaturowe dla dysocjacji składowych dupleksów. Rozważania strukturalne doprowadziły Doktoranta do zaproponowania modelu pokazanego na Ryc. 35, w których długie ciągi powtórzeń G₂C₄ w mRNA genu *C9orf72* mogą formować potrójną helisę składającą się z ciągu trzech różnych trypletów, a mianowicie C-C⁺·C, C⁺·G-C i G·C-G. Podsumowując, Doktorant wykazał tworzenie się do tej pory niezidentyfikowanych struktur antysensowego mRNA genu *C9orf72*, które mogą również mieć znaczenie w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych.

Do tej części rozprawy mam tylko kilka niewielkich uwag, a mianowicie: czy prawdą jest, że „wyższe tempo” protonowania reszty cytozyny prowadziło do wzmocnienia interakcji Hoogsteena w trypletach C? Czy w tym przypadku chodzi raczej o efektywność protonowania, a nie o tempo? Nie badano kinetyki tworzenia struktury G₂C₄ w zmiennym pH. Często używane sformułowanie „konformacja typu *stacked*” powinno być nazwane „konformacja zapewniająca asocjację warstwową”. Nie rozumiem co autor miał na myśli pisząc: „Metoda ma tę przewagę nad standardową krystalizacją, że nie wymaga do determinacji struktury biomolekuł uzyskania kryształów” czy też „Z wyższą rozdzielczością ... zdeteminowano strukturę ... ryboprzełącznika RNA” (str. 86).

Podsumowując stwierdzam, że Doktorant wykazał się wiedzą w tematyce rozprawy doktorskiej i po części zrealizował założone cele badawcze, zgodnie z wysokimi standardami naukowymi, uzyskując oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Pod względem merytorycznym rozprawa stanowi oryginalny wkład w rozwój wiedzy na temat molekularnych podstaw chorób neurodegeneracyjnych. Pomimo niepowodzeń w zakresie krystalizacji dłuższych fragmentów RNA kodujących ciągi powtórzeń CUG zidentyfikowanych w sensowym mRNA białka *C9orf72*, Doktorant rozwiązał strukturę kompleksu krótkiego RNA o sekwencji G₂C₄, także w kompleksie z ligandem bis-1,8-naftyrydynowym. Wykazał, że badane RNA tworzą uporządkowane struktury tetrapleksowe, które w sieci krystalicznej wykazują powstawanie niekanonicznych trypletów zasad. Wykazał, że termodynamiczna trwałość tych struktur jest zależna od pH, a więc protonowania reszt cytozyny, oraz od obecności liganda bis-1,8-naftyrydynowego. W badaniach o charakterze interdyscyplinarnym wykonano nadekspresję białek w systemie bakteryjnym, a także zostały zastosowane metody z zakresu: a) chemicznej i enzymatycznej syntezy kwasów nukleinowych, b) krystalografii kwasów nukleinowych, c) kriomikroskopii elektronowej, a także d) skaningowej kalorymetrii różnicowej, co wymagało od Doktoranta zdobycia nowej wiedzy i doświadczenia. Jakość naukowa uzyskanych wyników jest odpowiednia dla uzyskania stopnia doktora i wykazuje wymagany stopień nowości, potwierdzony opublikowaniem jednej pracy naukowej, w której Doktorant jest pierwszym autorem.

Tekst rozprawy został przygotowany porządnie, a swoje uwagi dotyczące wątpliwości i niedociągnięć umieściłam w treści recenzji i spodziewam się ożywionej dyskusji w trakcie publicznej obrony rozprawy. Doktorant świetnie dał sobie radę z interpretacją otrzymanych wyników krystalograficznych, co dobrze świadczy o posiadanej wiedzy teoretycznej i praktycznej zdobytej w trakcie przygotowywania rozprawy doktorskiej.

W mojej opinii Pan mgr Inż. Tomasz Ryzek zrealizował w większości założone cele badawcze. Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim.

Wniosek końcowy

Na podstawie wyżej omówionych osiągnięć 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. 56/2023/Internet z dnia 29 marca 2023 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie mgr. inż. Marcina Ryczka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Poprawność nieznana

Dokument podpisany przez Barbara Nawrot
Data: 2023.12.05 23:43:06 CET

