

Recenzja pracy doktorskiej w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora
w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Imię i nazwisko kandydatki: **Maria Nalewaj**

Tytuł pracy doktorskiej: *G-quadruplex motifs in the influenza A virus RNA genome: structural insights, ligand interaction, and potential function*

Promotor pracy doktorskiej: prof. dr hab. Elżbieta Kierzek

Promotor pomocniczy: dr Marta Szabat

Dziedzina: nauki ścisłe i przyrodnicze

Dyscyplina: nauki biologiczne

Recenzent: dr hab. Maria Górna, prof. UW

Praca doktorska Pani Marii Nalewaj dotyczy charakteryzacji występowania G-kwadrupleksów (G4) w strukturze genomu wirusa grypy typu A, a także możliwości wiązania tych struktur przez wybrane ligandy specyficznie oddziałujące z G4. Tematyka pracy jest zatem istotna dla zrozumienia biologii wirusów RNA, a także dla możliwości rozwoju potencjalnych terapii przeciwwirusowych. Zagadnienia te są istotne dla rozwoju dyscypliny nauki biologiczne a praca stanowi wartościowy wkład w rozwój poddziedziny, którą można by określić jako wirusologię molekularną.

Praca jest złożona z kilkudziesięciu stron wstępu oraz zawiera dwie opublikowane prace oryginalne poprzedzone ich krótkim omówieniem. Wstęp zawarty w pracy, jak i dodatkowa publikacja przeglądowa wchodząca w jej skład, demonstrują bogatą i wyczerpującą wiedzę kandydatki w obszarze biochemii RNA, G4, wiążących je ligandów oraz szeregu metod badania tych struktur i oddziaływań. Praca zawiera również omówienie procesów biologicznych, które mogą podlegać regulacji przez G4, a także wprowadzenie do biologii wirusów RNA. Należy uznać, że kandydatka prezentuje ogólną wiedzę całkowicie spełniającą wymagania stawiane osobie ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne.

Sposób omówienia prezentowanych zagadnień i wyników, swoboda poruszania się po tematyce oraz logika konstrukcji wywodu, świadczą o świetnym przygotowaniu kandydatki do pracy naukowej i o jej samodzielności w pracy badawczej. Opisane wyniki stanowią oryginalny wkład kandydatki w postaci: wykrycia kilkunastu PQS, udowodnienia tworzenia się struktur kilku G4 in vitro, a także pokazania możliwości potencjalnej interwencji w replikację wirusa grypy w komórkach (na układzie minireplikonu grypy). Szczególne uznanie budzą następujące aspekty pracy kandydatki. Po pierwsze, użycie kilku niezależnych metod biofizycznych w celu opisanie właściwości badanych RNA i ich podatności na wiązanie ligandów. Po drugie, systematyczność i dokładność w zestawianiu wyników w sposób krzyżowy, omówieniu poszczególnych parametrów, poszukiwaniu przyczyny pewnych rozbieżności. Na uwagę zasługuje również połączenie metod bioinformatycznych a nawet obliczeniowych z doświadczalnymi. Wreszcie, spójność tematyczna i logiczna kolejność podejmowanych badań, układająca się w zgrabną, dwuczęściową pracę doktorską o solidnym biochemicznym charakterze.

Nie mam wątpliwości, że prezentowana praca stanowi bardzo dobrą podstawę do nadania stopnia doktora. Poniżej przytaczam kilka nasuwających się pytań, które w żadnej mierze nie umniejszają wartości pracy kandydatki, a do których może ustosunkować się podczas obrony.

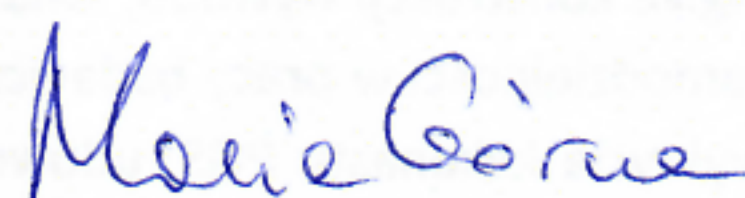
1. W opisie wykrytych G4, zwłaszcza 1Q, 7Q, 11Q, brakuje schematu wizualizującego trójwymiarową strukturę tych motywów RNA, ze wskazaniem pozycji, które poddane były zamianie na A w wersjach zmutowanych, a także które uległy naturalnej mutacji w szczepie PR8. Model 1Q z

- symulacji (Rys. 12-13, praca z 2025 r.) również pozostaje nieoznaczony co do szczegółów – tożsamości zasad a nawet końców.
2. Brakuje mi również zestawienia razem sekwencji wersji zmutowanych oraz PR8 dla 1Q, 7Q i 11Q. Pobieżne porównanie uwidacznia, że punkty mutacji w dużej mierze się pokrywają. W jaki sposób wnioski z pracy z 2021 r. dla wersji zmutowanych mogły by zostać użyte do dyskusji wyników uzyskanych dla PR8 w pracy z 2025 r.?
 3. Omówienie zmienności konformacji pętli w 1Q na podstawie symulacji (Rys. 13, praca z 2025 r.) zyskało by na przedstawieniu wykresu średniej fluktuacji (RMSF) vs. pozycji nukleotydu w sekwencji. Czy zmienność konformacyjna ulega antykorelacji z konserwacją sekwencji w danej pozycji?
 4. Tabela 2 w pracy z 2025 r. prezentuje wartości dla drugiego miejsca wiązania TMPyP4 w kolumnach dla zmutowanych wersji. Podejrzewam, że zaszło nieumyślne przesunięcie formatowania – chyba, że dane te dotyczą zmutowanych wersji?
 5. Wartości dla 1.25 μ M TMPyP2 na Rys. 15 w pracy z 2025 r. nie zostały uwidocznione i wydaje się, że powinny zostać całkowicie usunięte z wykresu. Co oznaczają litery A-F nad słupkami wartości?
 6. Jak tłumaczyć można porównywalny efekt TMPyP2 w porównaniu z TMPyP4 (zbliżone wartości IC50) w świetle tego, że TMPyP2 zamierzone było jako kontrola negatywna?
 7. Chętnie usłyszałabym, co kandydatka myśli o podejrzanym braku badanych G4 w pozycjach zmutowanych w genomie szczepu PR8. Jakie mogą być funkcjonalne przyczyny i konsekwencje tych zmian w strukturze vRNA lub mRNA?

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 Pani Marii Nalewaj do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

25.05.2026

.....
data



.....
Maria Górna, recenzentka