



Prof. dr hab. Agnieszka Chacińska
Laboratorium Biogenezy Mitochondriów
IMol Polska Akademia Nauk

Warszawa, 05.07.2022

Recenzja

Rozprawy Doktorskiej pani mgr Moniki Mazur

„Organizacja mitochondrialnego kompleksu importowego TOB/SAM u śluzowca *Dictyostellum discoideum* w procesie tworzenia wczesnych struktur wielokomórkowych”
wykonanej pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Wojtkowskiej, prof. UAM

z Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii

Wydziału Biologii

Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu

Kompleksy odpowiedzialne za transport białek do mitochondriów są jednymi z kluczowych elementów służących budowie mitochondriów - przedziałów komórkowych odpowiedzialnych za konwersję energii oraz inne procesy biochemiczne. W kontekście fundamentalnego ich znaczenia dla organizmów żywych istotne jest poznanie dynamiki architektury samych kompleksów, a także ich funkcji. Ciekawej wiedzy, zarówno z dziedziny biologii ewolucyjnej, jak struktury i poznania funkcjonalnego, dostarczają organizmy modelowe. Jednym z takich modeli stanowiących pierwowzór tworzenia się wielokomórkowości stanowi śluzowiec *Dictyostellum discoideum*.

Doktorantka podjęła się zadania poznania dynamiki kompleksu TOB/SAM odpowiedzialnego głównie za składanie się i dojrzewanie białek typu *beta-barrel* zewnętrznej błony mitochondrialnej, a także scharakteryzowała mitochondria pod kątem ich proteomu oraz pod względem parametrów biochemicznych i bioenergetycznych pochodzących z faz rozwoju śluzowca charakterystycznych dla tworzenia się formy wielokomórkowej. Powyżej opisanej



tematyki badawczej dotyczy przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska pani mgr Moniki Mazur.

Formalny opis rozprawy oraz ocena strony edytorskiej

Podstawą rozprawy doktorskiej są trzy prace naukowe. Dwie publikacje są pracami eksperymentalnym, a ostania z nich jest pracą przeglądową. Prace te zostały opublikowane w czasopiśmie z tzw. *impact factor* w języku angielskim. Ponadto w skład rozprawy wchodzi streszczenie zawartości trzech publikacji w języku polskim i angielskim, a także napisane w języku polskim wprowadzenie, które pozwala na przedstawienie kontekstu badawczego opublikowanych prac, jak również podsumowanie ich wyników, a także ich krótką dyskusję. Ta część jest napisana w sposób przejrzysty.

Dodatkowo na rozprawę składają się oświadczenia doktorantki, a także innych współautorów pracy, dotyczące ich wkładu do zaprezentowanych w rozprawie prac naukowych. Oświadczenia te nie pozostawiają żadnych wątpliwości, że wiodącym autorem w tych pracach była p. Mazur. Wkłady są opisane merytorycznie w sposób jednoznaczny, zarówno ze strony doktorantki, jak i innych autorów prac. Wydaje się, że koniecznym elementem takich oświadczeń są określenia procentowe wkładu pracy. Jednak chciałam tu zaznaczyć, że jestem przeciwna takiemu sposobowi określania wkładu do prac naukowych. Wkłady do prac przedstawione w sposób procentowy są właściwie niemożliwe do prawidłowego określenia, a przede wszystkim nie oddają wcale relacji i zależności współautorów. Niemniej jednak wkłady przedstawiono także opisowo i są one opisane w sposób niebudzący wątpliwości, zarówno w oświadczeniach doktorantki, jak i innych współautorów opublikowanych prac. Analizując te wkłady dochodzę do wniosku, że wymienione prace mogą stać się podstawą do rozprawy doktorskiej. Rozprawa nie zawiera zbyt wielu błędów edytorskich, pozostawiając wrażenie staranności w przygotowaniu tekstów i ich prezentacji.

Podsumowując, w mojej opinii przedstawiona mi rozprawa doktorska w formie trzech publikacji, opatrzone streszczeniami i wprowadzaniem, jest w pełni satysfakcjonująca i pozwala na ocenę dokonań kandydatki do stopnia doktora nauk biologicznych.



Ocena merytoryczna

Praca przeglądowa opublikowana w *Molecules* jest pracą przeglądową, którą czyta się znakomicie, wiedza w niej przedstawiona jest odpowiednio głęboka i przemyślana, a także przedstawia całość literatury w temacie.

Wyniki zawarte pracy doktorskiej zostały przedstawione w ramach dwóch prac eksperymentalnych. Pierwsza z nich, opublikowana w *Acta Biochemica Polonica*, stawia sobie za cel określenie składu podjednostkowego oraz architektury kompleksu TOB/SAM z zewnętrznej błony mitochondrialnej, w czasie przejścia śluzowca z formy jednokomórkowej do wczesnych form tworzenia się formy wielokomórkowej. Kompleks TOB/SAM jest odpowiedzialny za budowę białek typu beta-beczułka o unikalnej topologii w komórkach eukariotycznych i jego rdzeniowe podjednostki są zasadniczo absolutnie niezbędne do życia. Formy tego kompleksu były rozdzielone za pomocą elektroforezy natywnej ekstraktu mitochondriów i poddane analizie spektrometrii mas. Stwierdzono różnice w budowie podjednostkowej kompleksu TOB/SAM, które są zasadniczo zgodne z danymi literaturowymi z innych organizmów. Nie znaleziono różnic w poziomie tych białek, a także różnic w budowie różnych form kompleksu TOB/SAM w zależności od fazy cyklu życiowego śluzowca, z jednym wyjątkiem: białko mitofilina/Mic60 było wykryte tylko w fazie jednokomórkowej. Kompleks MICOS, którego część stanowi mitofilina, jest ważnym kompleksem wewnętrznej błony mitochondrialnej i w podsumowaniu zabrakło mi krótkiej dyskusji dotyczącej potencjalnego znaczenia tego wyniku, w szczególności w kontekście postawionego celu pracy. Niedociągnięcie to jest jednak łatwe do korekty w trakcie obrony pracy. Należy zaznaczyć, że taka dyskusja jest obecna w artykule opublikowanym w *Acta Biochemica Polonica*.

Następna praca opublikowana w *Genes* wydawnictwa MDPI to próba systemowego opisu mitochondriów, a konkretnie ich proteomu, a także wybranych funkcji bioenergetycznych w trzech fazach rozwoju śluzowca, w założeniu odwzorowujących przejście z etapu jednokomórkowego w stan wielokomórkowy. Eksperymenty spektrometrii mas wykonano na izolowanych mitochondriach. Analiza tych danych dostarczyła ciekawych obserwacji na temat plastyczności proteomu mitochondrialnego, jednak należy zaznaczyć, że ilość wykrytych białek jest zdecydowanie poniżej obecnych standardów osiągniętych w przypadku innych modeli



biologicznych, od drożdży po komórki człowieka. Chciałabym usłyszeć dyskusję w tym temacie w celu zidentyfikowania potencjalnych przyczyn tej wady, która w sposób znaczący ogranicza zasięg przedstawionej analizy. W badaniach tego typu bardzo ważny jest aspekt ilościowy analizy. Tutaj też nie jestem przekonana czy w pełni właściwie wykorzystano dostępne narzędzia i mam nadzieję, że dyskusja to wyjaśni. Jeden z aspektów do dyskusji to ilość mitochondriów w badanych fazach rozwoju śluzowca. Badania tej pracy opisały mitochondria i ich działanie w poszczególnych fazach rozwoju śluzowca i wskazały na metaboliczną zmianę mającą na celu wyciszenie funkcji oddechowej mitochondriów, oraz potencjalne uruchomienie innych ścieżek pozyskiwania energii, takich jako glukoneogeneza.

Badania podjęte przez doktorantkę były w pewnym sensie pionierskie, w szczególności w aspektach proteomicznych, z powodu pracy na nietypowym modelu, i analizie bardzo ciekawego przejścia z fazy jednokomórkowej do tworzenia się formy wielokomórkowej. Samo pytanie i podejścia eksperymentalne oceniam bardzo wysoko. Zaslugą doktorantki jest również to, że ustawiła główne techniki i dostarczyła interesujących danych, niewątpliwie borykając się z trudnościami występującymi w przypadku nowych podejść eksperymentalnych i nietypowych modeli. Poza krytyką, którą przedstawiłam powyżej, a która mam nadzieję doprowadzi do ciekawej dyskusji, chciałabym poruszyć jeszcze dwie sprawy:

- 1) Jak szeroko w literaturze badany śluzowiec jest traktowany jako model w przejściu z fazy jednokomórkowej do wielokomórkowej w ewolucji organizmów, a także do śledzenia zmian molekularnych?
- 2) Zebrane dane nie pozwalają rozróżnić zmian spowodowanych efektami głodzenia (które, jak powszechnie wiadomo, doprowadzają do zmian metabolicznych, w tym tych dotyczących mitochondriów) oraz spowodowanych przekształceniem się w formę wielkokomórkową. Czy jest możliwe rozróżnienie tych dwóch procesów na poziomie molekularnym i biochemicznym?

W podsumowaniu, wyniki zebrane, opisane i zinterpretowane przez doktorantkę rzucają ciekawe światło na dynamikę mitochondriów w różnych etapach rozwojowych śluzowca. Prezentują one nie tylko wartość poznawczą, ale mają także potencjał do kontynuacji na bardziej zaawansowanym poziomie. Przedstawione powyżej uwagi są zdeterminowane moją chęcią poszerzenia dyskusji i nie mają wpływu na moją pozytywną ocenę naukowej wartości



pracy. Zarówno wartość merytoryczną rozprawy, jak i kompetencje doktorantki oceniam dobrze.

Podsumowanie

Rozprawa doktorska p. mgr Moniki Mazur to wszechstronna analiza eksperymentalna aspektów biologii mitochondriów obejmujących analizę dynamiki składów kompleksu TOB/SAM z zewnętrznej błony mitochondrialnej, mitochondrialnych proteomów oraz wybranych parametrów bioenergetycznych będących funkcją stanu mitochondriów. Analiza ta dostarczyła wartościowych danych, choć niektóre z nich należy uznać ze wstępne, lub wręcz pionierskie. Doktorantka posiada właściwą wiedzę w dziedzinie, o czym między innymi świadczy opublikowanie wartościowej pracy przeglądowej.

Przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Ponadto dorobek naukowy kandydatki uzasadnia nadanie stopnia naukowego doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biochemii. W związku z powyższym, wnoszę do rady naukowej dyscypliny nauki biologiczne Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu o przyjęcie pracy i dopuszczenie pani mgr Moniki Mazur do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Agnieszka Chacińska

