



UNIwersytet Gdański



Prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn
Katedra Biologii Molekularnej
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

Tel. (58) 523 6024 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 6025 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 5501 (Kierownik Katedry)
e-mail: grzegorz.wegrzyn@biol.ug.edu.pl (Kierownik Katedry)
www.biology.ug.edu.pl/kbm

Gdańsk, 30 września 2019 r.

RECENZJA

pracy doktorskiej Pani mgr Patrycji Plewki

**pt. „Transkrypty genów tRNA i tRNA-podobnych i pochodzące z nich małe
RNA u *Arabidopsis thaliana*”**

Praca doktorska Pani mgr Patrycji Plewki pt. „Transkrypty genów tRNA i tRNA-podobnych i pochodzące z nich małe RNA u *Arabidopsis thaliana*” została wykonana na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Artura Jarmołowskiego. Jak wynika z samego tytułu rozprawy, Doktorantka zajmowała się problemami dotyczącymi transkryptów genów tRNA oraz podobnych do tRNA, ich modyfikacjami oraz potencjalną rolą w komórce. Tematyka ta odpowiada bardzo dobrze profilowi badań naukowych prowadzonych przez Promotora, który w zakresie biologii molekularnej kwasów nukleinowych oraz regulacji ekspresji genów ma ogromne doświadczenie i znakomity dorobek naukowy, w tym powstały w ramach badań wykonanych na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza. Zatem należy stwierdzić, że zostały zapewnione Doktorantce znakomite warunki do wykonania badań i przygotowania rozprawy doktorskiej w zaplanowanym zakresie.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska napisana jest w „tradycyjnej formie”, czyli w postaci manuskryptu książki. Zawiera typowe dla tego typu opracowań rozdziały, począwszy od Streszczenia, poprzez Wstęp, Cele Pracy, Materiały, Metody, Wyniki, Dyskusję, Wnioski i Perspektywy Badawcze, a kończąc na spisie cytowanej literatury.



Celem badań było określenie różnorodności transkryptów genów kodujących tRNA, a także cząsteczki podobne do tRNA, u *Arabidopsis thaliana*. Należy stwierdzić, że stosując nowoczesne podejścia eksperymentalne, przy okazji modyfikując i ulepszając istniejące do tej pory metody, Pani mgr Patrycja Plewka cel ten osiągnęła. W pierwszej części pracy, zoptymalizowała ona metodę masowego sekwencjonowania RNA, która jest specyficzna dla tRNA i pozwala na jakościową analizę cząsteczek aminoacylowanego tRNA. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń, po analizie bioinformatycznej, Doktorantka określiła kompletny zestaw cząsteczek tRNA i podobnych do tRNA obecnych w komórkach czternastodniowych siewek *Arabidopsis thaliana*. Wybierając do bardziej szczegółowej analizy cząsteczki podobne do tRNA, Pani mgr Patrycja Plewka skoncentrowała się na transkrypcie pochodzącym z genu *GUT15*, który jest niekodującym RNA powstającym w wyniku działania RNA polimerazy II, a niezależnie od aktywności RNA polimerazy III. Badana cząsteczka podobna do tRNA charakteryzowała się hamowaniem splicingu intronu pierwotnego jej transkryptu. Badając funkcje tRNA, które znajdują się pierwotnie w intronach transkryptów genów kodujących białka, Pani mgr Patrycja Plewka wykazała, że nie mają one wpływu na regulację splicingu.

Opisane wyżej w dużym skrócie wyniki badań Pani mgr Patrycji Plewki uznaję za ważne naukowo. Zostały one uzyskane przy zastosowaniu nowoczesnych metod biologii molekularnej. Doświadczenia zostały dobrze zaplanowane, poprawnie wykonane, a wyciągnięte wnioski są uprawnione. Doktorantka pokazała zatem, że potrafi samodzielnie rozwiązać problem naukowy i opisać wyniki badań w postaci rozprawy naukowej. Spełniła zatem wymagania merytoryczne wskazane w przepisach dotyczących nadawania stopnia doktora.

Przechodząc do szczegółowych uwag na temat ocenianej rozprawy doktorskiej, chciałbym zwrócić uwagę na bardzo dobrze przygotowane Streszczenie, które w syntetyczny sposób opisuje główne osiągnięcia zawarte w tej pracy. Wstęp zawiera podsumowanie aktualnego stanu wiedzy w zakresie biogenezy tRNA, struktur cząsteczek tRNA, sekwencji i cząsteczek podobnych do tRNA, alternatywnych funkcji tRNA oraz biologicznych funkcji cząsteczek podobnych do tRNA. Stanowi to bardzo dobre wprowadzenie do dalszych rozdziałów rozprawy.



Do rozdziału „Wstęp” mam kilka uwag redakcyjnych. (1) Opisując alternatywne funkcje tRNA, na str. 30 warto byłoby wspomnieć o znanej roli tRNA w replikacji DNA (np. niektórych wirusów) oraz regulacji tego procesu (np. u niektórych plazmidów). (2) Na str. 33, przy wymienianiu po raz pierwszy nazwy *Haloferax volcanii*, powinno się podać pełną nazwę rodzajową, a nie skróconą wersję (*H. volcanii*). (3) Na str. 33 spotykamy określenie będące pewnym żargonem, mianowicie „może zwiększać translację”. Można bowiem zwiększyć wydajność czy szybkość tego procesu, ale nie można „zwiększyć” translacji jako takiej.

Rozdziały „Materiały” i „Metody” są ogólnie opisane bardzo precyzyjnie i pozwalają na powtórzenie doświadczeń na ich podstawie. Mam tylko drobne uwagi redakcyjne. Mianowicie w rozdziałach tych są zawarte tabele, ale żadna z nich nie jest numerowana. Utrudnia to nieco dalszą lekturę tekstu. Dla przykładu, na str. 60 w tekście dotyczącym stosowanych oligonukleotydów Autorka odsyła czytelnika do „tabeli w rozdziale Metody” – ponieważ w tym rozdziale jest kilka tabel, stosując ich numerację Autorka mogła by ułatwić czytelnikom analizę pracy. W podrozdziale 3.2. wskazane byłoby podanie odnośników literaturowych do wymienionych szczepów bakteryjnych.

Wyniki badań zostały precyzyjnie opisane w rozdziale pod tym samym tytułem. Zwraca uwagę bardzo czytelnie przygotowany materiał ilustrujący uzyskane rezultaty. Moje uwagi i pytania do tej rozdziału są następujące. (1) Na Ryc. 17, panel A (str. 94) na ilustracji wyników doświadczeń typu „Northern-blotting” widoczny jest bardzo intensywny prążek oznaczony jako „niespecyficzny”. W jaki sposób Doktorantka może wytłumaczyć tak dużą intensywność tego prążka, wielokrotnie przewyższającą intensywność prążka „specyficznego”, obrazującego cząsteczki podobne do tRNA? (2) Na str. 105 czytamy, że „w celu potwierdzenia powyższych obserwacji ...”. Jest to niepoprawność metodologiczna. Badań naukowych nie powinno prowadzić się w celu „potwierdzenia czegoś”. Badania prowadzi się w celu zbadania danego zjawiska, określenia mechanizmu, itd. Można testować hipotezy badawcze. Natomiast nie powinno się prowadzić badań w celu potwierdzenia czegoś, gdyż takie podejście sprawia wrażenie, że autor pracy naukowej z góry zakłada jaki wynik otrzyma, albo co gorsze chce uzyskać takie a nie inne wyniki. Jest to sprzeczne z metodologią prowadzenia badań naukowych.



Rozdział „Dyskusja” zawiera dojrzałe napisane rozważania Doktorantki odnośnie uzyskanych wyników na tle dostępnej do tej pory literatury. Jest to bardzo cenna część pracy, wskazująca na dojrzałość naukową Pani mgr Patrycji Plewki.

Mam dodatkowo ogólną uwagę redakcyjną. Doktorantka używa określenia „i/lub” (np. na str. 87, 88, 118). To określenie w języku polskim nie ma logicznego sensu. Koniunkcja „i” oznacza bowiem konieczność spełnienia obu z podanych w zdaniu warunków, zaś alternatywa nierozłączna „lub” oznacza że może być spełniony jeden warunek bądź oba. Zatem określenie „i/lub” nie ma sensu, gdyż „i” zawiera się już w „lub”. Można by co prawda użyć określenia „i/albo”, czyli połączenia koniunkcji i alternatywy rozłącznej (tzn. spełnienia tylko jednego z dwóch warunków), ale nie ma takiej potrzeby, gdyż „i/albo” oznacza dokładnie to samo co „lub”. Można posłużyć się przykładem, że określenie „i/lub” ma logicznie taką samą wartość jak określenie „RNA/kwas nukleinowy”. Prawdopodobnie określenie „i/lub” wzięło się bezpośrednio z prostego tłumaczenia z języka angielskiego zwrotu „and/or”. Natomiast w języku angielskim nie ma odpowiednika słowa „lub”. Słowo „and” jest odpowiednikiem „i”, zaś słowo „or” jest odpowiednikiem „albo”. Zatem aby po angielsku powiedzieć „lub” trzeba użyć określenia „and/or”, natomiast nie ma takiej konieczności w języku polskim, gdyż istnieje słowo „lub”. Pewnym usprawiedliwieniem Doktorantki może być fakt, że stosowanie tego nielogicznego sformułowania „i/lub” spotyka się obecnie nagminnie w różnych tekstach pisanych, nie trudno zatem powielić ten błąd. Niemniej jednak, warto go unikać w przyszłości.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Patrycji Plewki opisuje oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wskazuje na ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie prowadzonych badań oraz na Jej umiejętność samodzielnego wykonywania pracy naukowej. Spełnia ona zatem wymagania ustawowe dotyczące rozpraw doktorskich. W związku z tym, przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza wniosek o dopuszczenie Pani mgr Patrycji Plewki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.