



dr hab. Anetta Borkowska, prof. UwB
Katedra Zoologii i Genetyki
Wydział Biologii
Uniwersytet w Białymstoku
tel. 85 738 83 81
e-mail: abork@uwb.edu.pl

Białystok, 15.09.2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Joanny Różańskiej-Wróbel

**pt. Associations between immune system genes of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*)
and outer surface protein genes of *Borrelia afzelii* spirochetes**

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Joanny Różańskiej-Wróbel została sporządzona na podstawie przepisu art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571 z późn. zm.; dalej ustawa) w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne, prowadzonego przez Radę Naukową Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Stosownie do wymagań określonych w art. 187 ust. 1 ustawy, przedmiotem recenzji była ocena czy przedłożona rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w dyscyplinie nauki biologiczne oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Oceniono także czy przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w rozumieniu art. 187 ust. 2 ustawy.

Rozprawa doktorska mgr Joanny Różańskiej-Wróbel zatytułowana "Associations between immune system genes of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) and outer surface protein genes of *Borrelia afzelii* spirochetes" [Związek genów układu odpornościowego nornicy rudej (*Clethrionomys glareolus*) z genami białek powierzchniowych krętków *Borrelia afzelii*] została wykonana pod kierunkiem profesora dr. hab. Jacka Radwana w Pracowni Biologii Ewolucyjnej Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Badania finansowane były z projektu NCN (MAESTRO 2019/34/A/NZ8/00231), którego kierownikiem był promotor pracy.

Praca została przygotowana w języku angielskim i stanowi spójną całość pod względem tematycznym. Dysertacja przedstawiona na 153 stronach zawiera informację o finansowaniu badań, streszczenie w języku polskim i angielskim, ogólne wprowadzenie i cele pracy, trzy rozdziały opisujące realizację założonych celów (1 publikacja i 2 manuskrypty), wnioski, spis piśmiennictwa oraz

oświadczenia dotyczące wkładu poszczególnych współautorów w powstanie publikacji i manuskryptów. Rozdział I stanowi współautorski artykuł naukowy opublikowany w 2024 roku w czasopiśmie *Molecular Ecology* (2024;00:e17534, <https://doi.org/10.1111/mec.17534>), w którym Doktorantka jest pierwszym autorem. Pani mgr Joanna Różańska-Wróbel pełniła także wiodącą rolę pierwszego autora w przygotowaniu nieopublikowanych dwóch manuskryptów, które zostały przedstawione w rozprawie jako rozdziały II i III. Forma pisemna przedłożonej do recenzji rozprawy odpowiada wymogom art. 187 ust. 3 ustawy, według którego „rozprawę doktorską może stanowić praca pisemna, w tym monografia naukowa, zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, [...] a także samodzielna i wyodrębniona część pracy zbiorowej”. Zgodnie z interpretacją Rady Doskonałości Naukowej zawartej w Komunikacie nr 19/2020, rozprawa doktorska, która ma formę pisemną może zawierać wyniki badań już opublikowane oraz te, które nie zostały jeszcze opublikowane. W rozprawie doktorskiej mgr Joanny Różańskiej-Wróbel zamieszczone zostało streszczenie w języku polskim, w myśl art. 187 ust. 4 ustawy.

1. Ocena ogólnej wiedzy teoretycznej mgr Joanny Różańskiej-Wróbel w dyscyplinie nauki biologiczne

Rozprawa doktorska mgr Joanny Różańskiej-Wróbel dotyczy bardzo interesującego problemu biologii ewolucyjnej jakim jest koewolucja żywicieli i pasożytów – proces ewolucyjnych zmian zachodzących w gatunkach powiązanych ze sobą ścisłymi zależnościami ekologicznymi. W swojej pracy Autorka analizuje genetyczne podstawy takich interakcji, wykorzystując jako model dziko żyjące nornice rude będące naturalnym żywicielem chorobotwórczych krętków *Borrelia afzelii*. W rozdziale I zbadane zostały zależności pomiędzy wariantami genów głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC) nornicy rudej a wariantami genu *OspC B. afzelii*, kodującego specyficzne białko umożliwiające bakteriom manipulację układem odpornościowym gospodarza. Drugim celem, realizowanym w pracy przedstawionej w rozdziale II, było określenie zależności między genami układu dopełniacza kodującymi czynnik CFH, biorący udział w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej nornic oraz genami *OspE B. afzelii*, odpowiedzialnymi za wytworzenie białek powierzchniowych wiążących CFH, co pozwala bakteriom na przeżycie w osoczu gospodarza. W rozdziale III Doktorantka zbadała zmiany ekspresji genów nornicy w odpowiedzi na zakażenie *B. afzelii* oraz zidentyfikowała geny gospodarza zaangażowane w obronę przed infekcją, przedstawiając molekularne mechanizmy leżące u podstaw adaptacji nornicy rudej do obecności bakterii w organizmie. Ogólny wstęp poprzedzający główne rozdziały I-III jak i części wstępne opublikowanej pracy oraz dwóch manuskryptów wskazują na bardzo szeroką znajomość tematyki, zarówno uznanych modeli koewolucji genów żywicieli i patogenów jak i szczegółowych wyników badań z ostatnich lat, które potwierdzają słuszność

wcześniej proponowanych założeń lub też przedstawiają nowe spojrzenie, dzięki zastosowaniu bardziej zaawansowanych technik badawczych. Opanowanie wiedzy teoretycznej potwierdza także szeroki zestaw piśmiennictwa, cytowany w ogólnym wstępie oraz w rozdziałach I-III. Widać, że Autorka dogłębnie przeanalizowała dostępną literaturę. W swojej dysertacji odwołuje się zarówno do prac podstawowych w zakresie wybranej tematyki badań jak i najnowszych publikacji z lat 2022-2024. Autorka posiada także teoretyczną wiedzę na temat różnorodnych metod biologii molekularnej, których wykorzystanie umożliwiło jej zbadanie zmienności na poziomie wybranych genów i analizę transkryptomów. Opisy stosowanych metod są przygotowane starannie i zrozumiale, np. opis metody real-time PCR wykorzystanej w celu określenia intensywności infekcji nornic przez *Borrelia* sp. (rozdział I), metod przygotowania prób do sekwencjonowania nowej generacji (rozdział II), sekwencjonowania RNA i określenia ekspresji genów (rozdział III), i in. Opisy wykorzystanych metod statystycznych i analiz bioinformatycznych oraz wyników otrzymanych po ich zastosowaniu zostały także starannie przedstawione w każdym z rozdziałów dysertacji, co świadczy o dogłębnym poznaniu przez Doktorantkę metod opracowania wyników badań biologicznych.

W mojej opinii, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pod tytułem „Associations between immune system genes of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) and outer surface protein genes of *Borrelia afzelii* spirochetes” prezentuje szeroką wiedzę teoretyczną mgr Joanny Różańskiej-Wróbel z zakresu nauk biologicznych, w szczególności z biologii molekularnej.

2. Ocena umiejętności prowadzenia pracy naukowej przez mgr Joannę Różańską-Wróbel w dyscyplinie nauki biologiczne

Praca doktorska mgr Joanny Różańskiej-Wróbel przedstawia dzieło bardzo przemyślane, z zauważalnym doskonaleniem warsztatu naukowego i metodologicznego Doktorantki. Autorka deklaruje 60-procentowy udział w powstanie pracy opublikowanej w *Molecular Ecology* (rozdział I), w tym udział w analizach genetycznych, opracowaniu wyników badań i ich interpretacji oraz pisaniu manuskryptu pracy. W kolejnych manuskryptach wkład mgr Joanny Różańskiej-Wróbel jest wyższy (80%), włączając w to udział w tworzeniu metodologii badań (rozdział II) oraz dodatkowo, udział w zaplanowaniu całego doświadczenia (rozdział III). Ogólne cele pracy doktorskiej jak i cele szczegółowe zawarte w każdym z rozdziałów są postawione poprawnie. Metody biologii molekularnej i analizy statystyczne dobrane są odpowiednio do założonych celów, co podkreśla nabycie przez doktorantkę umiejętności formułowania celów badawczych, planowania i prowadzenia badań, w tym przypadku w zakresie biologii molekularnej. Potwierdzeniem kompetencji Doktorantki jako badacza jest opublikowanie wyników badań w prestiżowym czasopiśmie naukowym – *Molecular Ecology* (IF=3,9, Q1). W tej publikacji doktorantka jest pierwszym autorem a niezależni recenzenci potwierdzili

poprawność metodologii i interpretacji wyników. Pozostałe dwa rozdziały dysertacji stanowią manuskrypty jeszcze nieopublikowane. Należy zwrócić uwagę, że tu także opis metod laboratoryjnych i statystycznych, opis i wizualizacja uzyskanych wyników oraz ich interpretacja są starannie przygotowane. Dyskusje w obu manuskryptach są bardzo ciekawe i wielowątkowe, co świadczy o nabyciu umiejętności poddania wyników badań własnych krytycznej analizie oraz prawidłowego formułowania wniosków w oparciu o zebrane informacje z odpowiednio dobranych źródeł naukowych. Szkoda jednak, że w manuskrypcie pt. „Do *Borrelia afzelii* outer surface protein E coevolve with complement factor H of its rodent host? Insights from GxG and spatial associations” zabrakło przedstawienia struktury genetycznej CFH/FH-R w badanych populacjach nornic, co byłoby bardzo pomocne do pełnego zrozumienia interpretacji uzyskanych wyników zawartej w dyskusji tej pracy. Autorka stwierdza, że było 57 różnych wariantów analizowanych fragmentów genów CFH/FH-R (str. 54) i struktura genetyczna określona w oparciu o ten marker została stwierdzona w badanych populacjach przez Notarnicolę i współpracowników (str. 57; dane nie są jeszcze opublikowane). Z oświadczenia Doktorantki wynika jednak, że brała ona udział w analizach genetycznych markera CFH/FH-R, więc wydaje się, że na potrzeby dysertacji szerszy opis/wizualizacja struktury genetycznej CFH/FH-R w populacjach nornic mógłby znaleźć się jako materiał uzupełniający, z zachowaniem oczywiście, adnotacji o autorach tych wyników.

Niemniej jednak, mogę stwierdzić, że podstawiona do oceny rozprawa doktorska ukazuje nabycie przez mgr Joannę Różańską-Wróbel bardzo dobrego przygotowania do pracy badawczej i wymaganych ustawowo kompetencji w zakresie prowadzenia pracy naukowej, w tym umiejętności formułowania celów badawczych, planowania i prowadzenia badań z wykorzystaniem nowoczesnych metod i aparatury badawczej, gromadzenia danych i ich analizy bioinformatycznej i statystycznej oraz prawidłowej interpretacji otrzymanych wyników w oparciu o dostępną literaturę fachową.

3. Ocena czy przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr Joanny Różańskiej-Wróbel jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w dyscyplinie nauki biologiczne

Problematyka poruszana przez mgr Joannę Różańską-Wróbel w rozprawie doktorskiej dotyczy genetycznych podstaw zależności między gospodarzem i jego pasożytem oraz mechanizmów napędzających dostosowanie obu stron takiej interakcji. Jest to temat znany w biologii ewolucyjnej i szeroko badany. W ogólnych założeniach, w wyniku współzależnej ewolucji, nowe warianty genów powinny pojawić się u obu gatunków jako wynik rozwijania przez pasożyta mechanizmów obronnych przed układem odpornościowym gospodarza, podczas gdy gospodarz rozwija nowe sposoby, które pozwalają mu skuteczniej wykryć i zwalczyć pasożyta. Doktorantka podjęła się zbadania genetycznego podłoża takiej koewolucji w naturalnych populacjach, wykorzystując do tego celu układ

nornica ruda – *Borrelia afzelii*. Jest to podejście oryginalne, w szczególności, że nornica ruda jest w Europie naturalnym gospodarzem krętków *Borrelia* sp., u których nie obserwuje się tak ostrych objawów chorobowych jak w przypadku boreliozy u ludzi. Dodatkowo, doktorantka przeanalizowała ten problem wieloaspektowo, przedstawiając zależności ewolucyjne gospodarz – patogen na poziomie genów (MHC - OspC oraz CFH/FH-R – OspE; rozdziały I i II) jak i transkryptomów (rozdział III). Zbadanie w rozdziale IIII odpowiedzi gospodarza na zakażenie bakterią mierzonej poziomem ekspresji genów w tkankach skóry w miejscu wniknięcia patogenu było oryginalnym podejściem.

Za bardzo cenne, niekwestionowane oryginalne rozwiązania założonych celów badawczych, które zostały przedstawione przez mgr Joannę Różańską-Wróbel jako wyniki rozprawy doktorskiej uważam opisanie pozytywnego związku między poziomem przeciwciał IgG przeciwko dwóm powszechnym wariantom OspC *Borrelia* a intensywnością zakażenia nornic tymi wariantami oraz wykazanie, iż allele MHC nornicy różnią się pod względem zdolności do indukowania odpowiedzi przeciwciał przeciwko określonym wariantom OspC *Borrelia*. Prowadzi to prawdopodobnie do selekcji polimorfizmu OspC patogena przez układ odpornościowy gospodarza. Doktorantka opisała także, że w miejscu wniknięcia bakterii u zarażonych nornic następuje aktywacja genów związanych z funkcjonowaniem limfocytów B i produkcją przeciwciał. Wykazała zmniejszoną reakcję prozapalną nornic i zmiany w ekspresji genów związanych z organizacją macierzy zewnątrzkomórkowej. Praca dostarcza także cennych informacji dotyczących szlaków metabolicznych gospodarza aktywowanych w celu zwiększenia tolerancji jego tkanek na zarażenie patogenem. Zwraca także uwagę na aktywację ścieżek metabolicznych związanych z chorobami neurodegeneracyjnymi (zmiany ekspresji genów związanych z metabolizmem, odpowiedzią na stres oksydacyjny czy degradację białek), co może wskazywać na szersze konsekwencje zakażenia krętkami *Borrelia* u jej naturalnego gospodarza niż dotychczas sądzono.

Przedstawiona rozprawa doktorska stanowi bez wątpienia oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w dyscyplinie nauki biologiczne. Jestem przekonana, że nieopublikowane jeszcze wyniki badań mgr Joanny Różańskiej-Wróbel zawarte w przygotowanych przez nią dwóch manuskryptach zostaną wkrótce opublikowane. Prace staną się z pewnością bardzo cennym wkładem w rozwój wiedzy z zakresu biologii ewolucyjnej, pozwalając także lepiej zrozumieć mechanizmy obrony przed krętkami *Borrelia* sp. u ludzi.

4. Wniosek końcowy

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej mgr Joanny Różańskiej-Wróbel pt. „Associations between immune system genes of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) and outer surface protein genes of *Borrelia afzelii* spirochetes”, przeprowadzoną w oparciu o kryteria określone w art. 187

ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce stwierdzam, iż spełnia ona ustawowe wymagania. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska prezentuje szeroką wiedzę teoretyczną mgr Joanny Różańskiej-Wróbel z zakresu nauk biologicznych, ukazuje nabycie przez nią bardzo dobrego przygotowania do pracy badawczej i wymaganych ustawowo kompetencji w zakresie prowadzenia pracy naukowej oraz stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w dyscyplinie nauki biologiczne.

Wniosuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr Joanny Różańskiej-Wróbel do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. Biorąc także pod uwagę bardzo wysoki poziom merytoryczny rozprawy doktorskiej, kompleksowe, oryginalne podejście do rozwiązania postawionego problemu badawczego, wykorzystanie w badaniach wielu nowoczesnych metod biologii molekularnej i analizy danych oraz fakt opublikowania części wyników w renomowanym międzynarodowym czasopiśmie naukowym, wnioskuję o stosowne jej wyróżnienie.

Anette Borowska