

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pana magistra Wojciecha Dziegielewskiego
pt. „Funkcje chromatyny w transkrypcji, odpowiedzi na stres oraz rekombinacji
mejotycznej u *Arabidopsis thaliana*”**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska autorstwa Pana magistra Wojciecha Dziegielewskiego, zatytułowana „Funkcje chromatyny w transkrypcji, odpowiedzi na stres oraz rekombinacji mejotycznej u *Arabidopsis thaliana*” złożona została w formie potocznie zwanej „hybrydową”, czyli w postaci zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych, uzupełnionych o opis nieopublikowanych do tej pory wyników badań. Materiały te zaopatrzone są w streszczenie w języku polskim i angielskim oraz dodatkowe opisy, stanowiące swojego rodzaju omówienie i podsumowanie całości prac badawczych ujętych w rozprawie. Promotorem pracy jest Pan prof. dr hab. Piotr Ziółkowski, posiadający znaczące osiągnięcia w zakresie biologii i genetyki molekularnej, w tym badań nad regulacją ekspresji genów, a podmiotem doktoryzującym jest Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Po zapoznaniu się z materiałami stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wymagania formalne dla rozpraw doktorskich, określone w art. 187 ust. 3 i 4 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571). Ponadto należy wskazać, że zarówno osoba promotora rozprawy jak też jednostka, w której wykonywane były badania, zapewniały odpowiednio doskonałą opiekę merytoryczną i znakomite warunki do przeprowadzenia eksperymentów laboratoryjnych oraz analiz *in silico*.

Tematyka badań zaprezentowanych w rozprawie doktorskiej Pana magistra Wojciecha Dziegielewskiego dotyczy bardzo ważnych naukowo aspektów regulacji ekspresji genów w komórkach eukariotycznych, a mianowicie dynamiki budowy chromatyny i jej wpływu na efektywność transkrypcji różnych genów. Ma to szczególne znaczenie w regulacji odpowiedzi na stres środowiskowy, co znalazło odzwierciedlenie w przeprowadzonych i opisanych w rozprawie badaniach. Dodatkowym i równie ważnym aspektem prac badawczych wykonanych przez Doktoranta był proces rekombinacji genetycznej zachodzący podczas mejozy, w którym budowa chromatyny ma ogromne znaczenie. Jako model badawczy wybrano rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) – jedną z najczęściej używanych roślin w badaniach z zakresu genetyki molekularnej tej grupy organizmów.

Na cykl publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej Pana magistra Wojciecha Dziegielewskiego składają się trzy artykuły, które ukazały się w *Nature Communications*, jeden artykuł w *Methods in Molecular Biology* oraz jeden artykuł we *Frontiers in Plant Science*. Publikacje w *Nature Communications* to prace oryginalne (eksperymentalne), artykuł w *Methods in Molecular Biology* to praca metodyczna, zaś artykuł we *Frontiers in Plant Science* ma charakter pracy przeglądowej. Doktorant jest pierwszym (a jednocześnie jednym z dwóch – wspólnie z promotorem) autorem w pracy przeglądowej, współ-pierwszym (wraz z dwoma innymi) autorem jednej z prac eksperymentalnych, trzecim autorem w pracy metodycznej oraz drugim autorem w dwóch pozostałych pracach oryginalnych.

Rolą recenzenta rozprawy doktorskiej jest określenie spełnienia przez Doktoranta warunków ustawowych, w tym stwierdzenia, czy zaprezentował odpowiednią wiedzę teoretyczną, czy wykazał umiejętność samodzielnego prowadzenia badań oraz czy rozwiązał problem naukowy. W przypadku publikacji wieloautorskich wchodzących w skład rozprawy, kluczowe w ocenie dokonań Doktoranta są oświadczenia współautorów. Niestety z treści załączonych do rozprawy oświadczeń nie można jednoznacznie wywnioskować jaka była rola Pana

magistra Wojciecha Dzięgielewskiego w powstanie poszczególnych artykułów. Dla przykładu, w oświadczeniach do tej samej pracy Doktorant pisze, że Jego wkład polegał na „przygotowaniu koncepcji pracy, (...), przygotowaniu tekstu manuskryptu i rysunków”, podczas gdy według innego współautora, to on był odpowiedzialny za „przygotowanie pracy, (...), napisanie manuskryptu i rysunków”. Kto zatem postawił hipotezę badawczą, kto pisał manuskrypt i kto przygotował rysunki, skoro dwóch autorów sobie i tylko sobie przypisuje wszystkie te role? Trzeba zwrócić uwagę, że żaden z nich nie napisał o „udziale” w tych czynnościach (przy określeniu w jakim zakresie ten udział miał miejsce), tylko o samodzielnym ich wykonaniu. To tylko przykład, bo podobnych niejasności w oświadczeniach współautorów jest znacznie więcej. W omawianym zakresie znacznie więcej precyzyjnych informacji można uzyskać czytając tekst dodatkowych materiałów zawartych w samej rozprawie, gdzie Pan mgr Wojciech Dzięgielewski znacznie precyzyjniej opisał swój wkład w przeprowadzone badania, wykonanie analiz i wysnucie wniosków. Głównie na podstawie tego mogę jednoznacznie stwierdzić, że Doktorant zaprezentował odpowiednią wiedzę teoretyczną, samodzielnie wykonał badania naukowe oraz rozwiązał problem naukowy.

Oceniając wartość merytoryczną badań przeprowadzonych przez Pana magistra Wojciecha Dzięgielewskiego i opisanych w Jego rozprawie doktorskiej, na początku muszę zwrócić uwagę na warsztat metodyczny Doktoranta, który jest imponujący. Zaprezentowane prace opisują wykorzystanie nowoczesnych metod z zakresu genetyki i biologii molekularnej, biologii komórki a także analiz bioinformatycznych, w których Pan mgr Wojciech Dzięgielewski wykazał szczególne zaangażowanie i wysokie umiejętności. Część metodyczna jest zatem niewątpliwie bardzo mocną stroną pracy.

Opis wykonanych badań jest bardzo obszerny, a oprócz pięciu opublikowanych prac obejmuje także dodatkowe materiały, znakomicie uzupełniające dane przedstawione w artykułach naukowych. W związku z tym, że nie

mam krytycznych uwag do przeprowadzenia eksperymentów i analiz oraz przedstawienia rezultatów tych prac, poniżej wskażę na najważniejsze – moim zdaniem – osiągnięcia zawarte w ocenianej rozprawie doktorskiej.

Badając funkcje acetylotransferazy NuA4 w komórkach rzodkiewnika, Doktorant wykazał, że enzym ten jest wymagany do efektywnej ekspresji genów kodujących białka zaangażowane we wzrost rośliny i fotosyntezę. Acetylotransferaza NuA4 okazała się jednakże enzymem wielofunkcyjnym, na co wskazuje odkrycie Doktoranta, że stymuluje ona zmianę lokalizacji histonu H2A.Z w chromatynie w obrębie genów, których funkcje są związane z reakcją rośliny na stres. Bardzo ciekawe było wykazanie, że hamowanie ekspresji genów odpowiedzi na stres jest związane z procesami acetylacji i deacetylacji histonów H2A.Z i H3 przez deacetylazę HDA19.

Z kolei dla mnie szczególnie intrygujące były rezultaty badań wynikających z doświadczeń prowadzonych w celu określenia czy możliwe jest modyfikowanie struktury chromatyny przy zastosowaniu endonukleazy dCas9 ze zniesioną aktywnością katalityczną. Otrzymane przez Doktoranta rezultaty sugerują, że doprowadzenie peptydu VP64 skutkuje zwiększoną aktywnością docelowego genu. Co więcej, prowadzi to do lokalnych zmian w strukturze chromatyny, co z kolei może mieć wpływ na rekombinację mejozy.

Na podkreślenie zasługują badania Doktoranta, w których nie tylko zastosował, ale także zmodyfikował metody bioinformatyczne. Między innymi Pan mgr Wojciech Dziegielewski opracował metodę przewidywania miejsca zachodzenia rekombinacji mejozy. Doktorant stworzył także specyficzne narzędzie informatyczne, dzięki któremu można efektywnie i w krótkim czasie porównywać dane otrzymywane na podstawie eksperymentów „genotypowania przez sekwencjonowanie”.

Jak wspominałem wyżej, do zaprezentowanych rezultatów badań nie mam uwag krytycznych. Mam natomiast dwa pytania:

1. Na str. 66 (opis nieopublikowanych badań), na Fig. 10A, na żelu w ścieżce 7 uzyskany obraz jest niejednoznaczny. Czy jest to jeden bardzo intensywny prążek czy dwa blisko siebie położone prążki? Analiza przedstawionego elektroforegramu sugeruje raczej tę drugą możliwość, ale pojawia się pytanie czy był to obraz powtarzalny? Jeśli odpowiedź na dwa powyższe pytania jest twierdząca, to co mogłaby oznaczać obecność takich dwóch prążków w tym układzie eksperymentalnym?
2. Drugie pytanie ma charakter dużo bardziej ogólny. Otóż badania zostały przeprowadzone na modelu rzodkiewnika. Na ile – zdaniem doktoranta – uzyskane wyniki są specyficzne dla tej rośliny, a na ile uniwersalne w świecie roślin? Idąc dalej, czy podobne mechanizmy mogą także funkcjonować w komórkach innych organizmów eukariotycznych, na przykład zwierząt lub grzybów?

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska wskazuje na spełnienie wszystkich warunków określonych w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571). Wnoszę zatem do Rady Naukowej Dyscypliny nauki biologiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Pana magistra Wojciecha Dzięgielewskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego. Jednocześnie ze względu na uzyskanie bardzo ważnych wyników badań, a także wykazanie ich dużego znaczenia dla poznania molekularnych mechanizmów odpowiedzi na warunki stresowe oraz przebieg rekombinacji genetycznej podczas mejozy, szczególnie w aspekcie zmian zachodzących w chromatynie komórek roślinnych, wnioskuję o rozważenie możliwości stosownego wyróżnienia tej rozprawy.



prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn