



Wrocław, 7 września 2020

Politechnika Wroclawska

prof. dr hab. Marcin Drąg
Katedra Chemii Biologicznej i Bioobrazowania
Politechnika Wroclawska

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Poleszak

z Laboratorium Bioinformatyki i Inżynierii Białka
w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej

pt. „Charakterystyka kompleksu MLH1-MBD4 tworzonych przez białka biorące udział w naprawie DNA”

Oddziaływania białko – białko, zwłaszcza w aspekcie defektów takich oddziaływań prowadzących do chorób, stanowią w ostatnich latach przedmiot intensywnych badań zarówno w laboratoriach akademickich jak i w przemyśle. Przedstawiona do recenzji praca doktorska magister Katarzyny Poleszak bardzo dobrze wpisuje się w ten nurt badawczy, w szczególności w aspekcie badań nad zastosowaniem interdyscyplinarnych metod badawczych. Praca została wykonana pod opieką prof. dr hab. Janusza Bujnickiego z Laboratorium Bioinformatyki i Inżynierii Białka w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej, którego laboratorium specjalizuje się w prowadzeniu tego typu badań.

Głównym celem pracy Doktorantki była próba wyjaśnienia charakterystyki oddziaływania kompleksu MLH1-MBD4, również w aspekcie mutacji w genie MLH1 związanych z zespołem Lyncha. Taki wybór tematyki badawczej w aspekcie coraz liczniejszych doniesień literaturowych o kluczowej, acz dalej nie do końca zrozumiałej i wyjaśnionej roli tych białek w rozwoju wielu chorób uważam za jak najbardziej trafny i uzasadniony.

Analiza bazy Pubmed wskazuje, iż dorobek badawczy magister Katarzyny Poleszak stanowi osiem prac w bardzo dobrych recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. W jednej z nich (Nucleic Acid Research, 2012) Doktorantka jest pierwszym autorem, co szczególnie podkreśla jej wkład w prowadzone badania. W

Wyb. Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław
tel. +48 (71) 320 4526
email: marcin.drag@pwr.edu.pl

przedstawionej do oceny pracy doktorskiej znajduje się także informacja, iż wyniki pracy doktorskiej opisano w publikacji, która będzie opublikowana w niedalekiej przyszłości. Powyższy dorobek naukowy oceniam wysoko, zwłaszcza w aspekcie publikacji w czasopiśmie wiodącym dla dziedziny.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Katarzyny Poleszak ma klasyczny układ i liczy 127 stron. Wstęp do pracy poprzedza wykaz skrótów, który znacznie ułatwia nawigowanie w dalszych rozdziałach oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Wstęp teoretyczny do pracy został napisany na wysokim poziomie merytorycznym i jest doskonałym kompendium wiedzy wprowadzającym do podmiotu pracy doktorskiej. Ten rozdział jest napisany w bardzo przystępny i logiczny sposób, a Doktorantka dobrze dobrała literaturę. Co ważne, odniesienia literaturowe w większości dotyczą prac źródłowych, co dodatkowo jest dowodem, iż mgr Poleszak ma duży zasób wiedzy w zakresie literatury tematu. Moja uwaga dotyczy w tej części pracy Rycin 1 i 2 mających przedstawić podobieństwa i różnice pomiędzy mechanizmami naprawy MMR u *E. coli* oraz eukariontów. Pomimo opisu w tekście, iż różnice w tych mechanizmach istnieją, obydwie ryciny są identyczne i niemożliwym jest dopatrzenie się jakichkolwiek różnic pomiędzy nimi. Ta sama jest nawet literówka w słowie Egoznukleazy (powinno być egzonukleazy). Kolejna moja uwaga dotyczy użycia słowa „konserwowana” (s.25) w zdaniu „...zlokalizowany w poddomenie In, która jest konserwowana u większości podrodzin...”. Wydaje się, iż jest to słowo bezpośrednio zapożyczone z angielskiego, które spolszczone ma raczej inne znaczenie, a poprawnym słowem powinno być „zachowana”. Podobnie słowo „konserwowana” w różnych odmianach pojawia się w dalszych częściach pracy.

Następnie, na jednej stronie mgr Katarzyna Poleszak przedstawiła cele swojej pracy mające prowadzić do udowodnienia postawionej hipotezy badawczej.

W rozdziałach Materiały i Metody Doktorantka w jasny i precyzyjny sposób przedstawiła wszystkie metody badawcze, a także organizację planu badań. Szeroki wachlarz zastosowanych metod dowodzi, iż mgr Katarzyna Poleszak opanowała wiele różnych technik badawczych, a także potrafiła ich użyć do osiągnięcia zaplanowanych celów badawczych. Wszystkie eksperymenty są przedstawione w taki sposób, iż ich powtórzenie przez niezależnego badacza, wyłącznie na podstawie opisów w pracy, nie byłoby problemem. Moja uwaga dotyczy tutaj Tabeli 18, w której przedstawione jest użyte oprogramowanie. Wydaje się, iż wskazanym byłoby oprócz podania nazwy i producenta oprogramowania, również jego wersji, która, bądź które zostały wykorzystane do badań.

Rozdział Wyniki podzielony jest na cztery podrozdziały, w których Doktorantka szczegółowo przedstawiła osiągnięcia badawcze w zakresie celów naukowych pracy. Widać,

iż mgr Poleszak bardzo dużo czasu poświęciła na opracowanie i analizę danych eksperymentalnych, które są na wysokim poziomie merytorycznym. Dobór metod badawczych wskazuje, iż śmiało można powiedzieć, że praca ma charakter interdyscyplinarny. Bardzo podobają mi się eksperymenty z mikromacierzami peptydowymi, które wnoszą do pracy dużą wartość naukową i dowodzą wysokiej użyteczności tej metody badawczej. W tym aspekcie moje pytanie dotyczy metod chemii kombinatorycznej. Czy Doktorantka rozważała użycie kombinatorycznych mieszanin peptydów w swoich badaniach? Te metody są obecnie szeroko stosowane w badaniu oddziaływań białko – białko i wydają się idealne do zastosowania w przedmiotowych badaniach.

W rozdziale Dyskusja mgr Poleszak w sposób wysoce merytoryczny odnosi się do wyników przeprowadzonych eksperymentów, a także w wyważony sposób dyskutuje swoje osiągnięcia w aspekcie wcześniejszych doniesień w literaturze tematu. Na uwagę zasługują wyniki opisujące molekularne podstawy dysfunkcji różnych wariantów białka MLH1 związanych z zespołem Lyncha. Mogą one z pewnością być wykorzystane w przyszłości do lepszego zrozumienia tej choroby, racjonalnego zaprojektowania terapii czy nawet opracowania lepszych testów do jej precyzyjnej diagnozy.

Podsumowując, za najważniejsze odkrycia naukowe pracy doktorskiej magister Katarzyny Poleszak uważam:

1. Zidentyfikowanie obszarów biorących udział w oddziaływaniu pomiędzy MLH1 oraz białkiem MBD4 zawierającym motyw MIP.
2. Przeprowadzenie pełnej analizy oraz identyfikacja reszt aminokwasowych biorących udział w wiązaniu pomiędzy MLH1 oraz MBD4.
3. Wyjaśnienie zależności w oddziaływaniu białek MLH1 oraz MBD4 a zespołem Lyncha.
4. W oparciu o otrzymane dane, opracowanie modeli strukturalnych kompleksu MLH1-MBD4 i zaproponowanie sposobu oddziaływania pomiędzy tymi białkami.

Reasumując wartość merytoryczną przedstawionej pracy doktorskiej, można zdecydowanie stwierdzić, iż otrzymane wyniki mają znamiona odkrycia naukowego, a przedstawiony w pracy materiał badawczy z pewnością ma szansę na publikację w czasopiśmie o dużym współczynniku oddziaływania.

Pod względem edytorskim i graficznym, praca doktorska mgr Poleszak została przygotowana w staranny sposób. Zdarzają się błędy interpunkcyjne czy edytorskie, niemniej ich ilość jest nieduża i nie ma wpływu na ogólną, bardzo wysoką ocenę pracy.

Podsumowując, przedstawiona rozprawa doktorska magister Katarzyny Poleszak z Międzynarodowego Instytutu Biologii Molekularnej i Komórkowej W Warszawie pod tytułem „Charakterystyka kompleksu MLH1-MBD4 tworzonego przez białka biorące udział w naprawie DNA” ma oryginalny oraz nowatorski charakter, a zawarte w niej wyniki badań mają zdecydowanie cechy nowości naukowej. Doktorantka w bardzo trafny sposób wybrała metody badawcze do swoich badań. Zamieszczone tutaj uwagi i zastrzeżenia nie mają wpływu na moją bardzo wysoką ocenę pracy. Po całkowitej ocenie przedstawionej pracy z całą pewnością stwierdzam, iż spełnia ona wszystkie zwyczajowe i ustawowe wymagania stawiane pracom doktorskim. Podkreślając wysoki poziom merytoryczny pracy, bardzo dobry dorobek naukowy oraz duży wpływ wyników na rozwój dyscypliny wnoszę o wyróżnienie pracy odpowiednią nagrodą.

Wnoszę więc do wysokiej Rady Naukowej Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

prof. dr hab. Marcin Drąg