

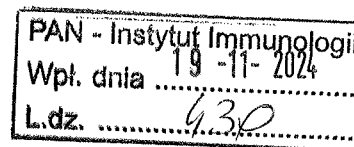


WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII

PRACOWNIA BIOLOGII MEDYCZNEJ
ul. Joliot-Curie 14a
50-383 Wrocław

www.biotech.uni.wroc.pl

Prof. dr hab. Teresa Olczak
Tel. 71 3752 612
E-mail: teresa.olczak@uwr.edu.pl



Wrocław, 14.11.2024 r.

Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Mateusza Noszki pt. „Characterisation of CemR regulons of selected pathogenic *Campylobacter* species”/”Charakterystyka regulonów CemR wybranych chorobotwórczych gatunków *Campylobacter*”

Rozprawa doktorska mgr inż. Mateusza Noszki została zrealizowana w Laboratorium Biologii Molekularnej Mikroorganizmów w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk, pod kierunkiem dr hab. Anny Pawlik. Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej przez Doktoranta są kontynuacją badań prowadzonych w zespole dr hab. Anny Pawlik i wnoszą nowe, istotne dane do tej dziedziny badań, a tematyka podjęta w pracy doktorskiej przez Doktoranta wpisuje się w nurt nowoczesnych badań nad patogenami człowieka.

Rozprawa doktorska to zbiór 2 opublikowanych prac (Nature Communications i mSystems) oraz dane nieopublikowane, uzupełniające pierwszą publikację, przesłane w wersji papierowej oraz na płycie CD-R. Doktorant przedstawia bardzo krótko zarys dziedziny, w obrębie której prowadził badania (1 strona), założenia pracy doktorskiej (1 strona), wnioski (1 strona) oraz stosowne oświadczenia współautorów opublikowanych prac (32 strony). Zadeklarowany zakres udziału współautorów w poszczególnych publikacjach nie budzi wątpliwości, iż mgr Mateusz Noszka miał wiodący udział w tych pracach. Cytowania zawarte w 2 opublikowanych pracach zostały uzupełnione dodatkowymi 23 pozycjami literaturowymi. Pomimo, że w opublikowanych pracach w ramach wstępu zostały bardzo krótko opisane badane bakterie oraz odniesienie do wiedzy dotyczącej badanych białek regulatorowych, pomocny byłby szerszy wstęp w ramach Autoreferatu, wprowadzający w tematykę pracy doktorskiej.

Zasadniczym celem pracy doktorskiej była identyfikacja i charakterystyka regulonów CemR w obrębie wybranych gatunków bakterii należących do klasy *Campylobacter*. Doktorant skoncentrował się na patogennych lub potencjalnie patogennych bakteriach *Helicobacter pylorii*, *Campylobacter jejuni* i *Arcobacter butzleri*. Szczegółowe cele obejmowały wykazanie funkcji komórkowych, zwłaszcza w warunkach stresowych, regulowanych przez te regulatory, ze wskazaniem tych powszechnych dla wszystkich badanych

bakterii oraz gatunkowo-specyficznych. Założone cele pracy doktorskiej zdaniem Recenzenta zostały całkowicie zrealizowane.

Do realizacji założonego celu pracy doktorskiej mgr Mateusz Noszka wykorzystał szeroki panel metod badawczych, w tym techniki biologii molekularnej do skonstruowania zmutowanych szczepów, metody nadprodukcji i oczyszczania białek, nowoczesne metody wykorzystywane do globalnej analizy transkryptomu i proteomu, a także metody potwierdzające oddziaływanie regulatorów CsmR z sekwencjami DNA regulowanych genów (ChIP-qPCR, ChIP-seq i EMSA). Na pozytywną uwagę zasługuje opracowanie, samodzielnie lub we współpracy z innymi badaczami, i klarowne przedstawienie tak ogromnej ilości danych. Świadczy to o dużej umiejętności doboru i posługiwania się odpowiednimi narzędziami.

Praca doktorska zawiera wiele cennych wyników naukowych, z których ogromna część to dane nowe, wnoszące istotny wkład w dziedzinę dalszej charakterystyki nie tylko fizjologii badanych bakterii, ale mogących mieć również wpływ na wyjaśnienie ich patogenności. Istotny jest także fakt, że większość tych wyników została już opublikowana, czyli została poddana dogłębnej ocenie przez specjalistycznych recenzentów renomowanych czasopism. Dodatkowe dane, jeszcze nieopublikowane, stanowią bardzo dobre uzupełnienie wyników przedstawionych w opublikowanej pracy. Co istotne, uzyskane globalne dane dają podstawy do dalszych badań.

Recenzent, który nie jest ekspertem w dziedzinie omiki, nie ocenia szczegółowo uzyskanych wyników, gdyż zostały one poddane dogłębnej ocenie przez ekspertów. O niezbyt prostej ich interpretacji świadczy nie tylko ogromna ilość danych omicznych, z których duża część wymaga nadal potwierdzenia, ale także fakt udziału kilku współautorów do ich analizy. Dlatego też, Recenzent zwraca uwagę na kilka wybranych, interesujących aspektów tej rozprawy. Ciekawe jest nie tylko wykazanie we wszystkich badanych bakteriach regulacji przez badane białka genów zaangażowanych w odpowiedź na stres oksydacyjny (na sugerowanej zasadzie przełączników redoks), czy też produkcję/zużycie energii w zależności od dostępności tlenu, ale także np. u *H. pylori* wykazanie genów, których produkty zaangażowane są w przyjmowanie DNA. Czy rzeczywiście ta zdolność do naturalnej kompetencji może sprzyjać zwiększonej patogenności? Jeśli tak, to jakie geny mogły być w ten sposób nabyte?

Chociaż w obydwu opublikowanych pracach oraz w części wyników dodatkowych Doktorant odnosi się krótko do uzyskanych wyników, w rozprawie doktorskiej brakuje krótkiej, całościowej dyskusji nad własnymi wynikami i ich szerszego odniesienia do innych opublikowanych prac. Recenzent nie wymaga przedstawienia takiej dyskusji podczas obrony

pracy doktorskiej, a jedynie wskazuje na taką potrzebę w przypadku, gdy w dorobku Doktoranta nie ma pracy przeglądowej.

Pomimo przejrzystego przedstawienia uzyskanych wyników i pozytywnej oceny większości z nich przez ekspertów renomowanych czasopism, Recenzent prosi o dodatkowe, krótkie ustosunkowanie się Doktoranta do pytań nasuwających się po lekturze ocenianej rozprawy doktorskiej, głównie w celu poszerzenia dyskusji:

- 1) Czy oprócz sugerowanego udziału reszt cysteiny w wyczuwaniu stanu redoks przez badane regulatory, znaczenie może mieć też struktura tych białek ?
- 2) Do nadprodukcji badanych białek wykorzystano stosunkowo niskie stężenie IPTG oraz krótki czas inkubacji po dodaniu IPTG ? Czy było to czymś uzasadnione ? Czy pozostawienie znacznika Strep w rekombinowanych białkach nie ma wpływu na ich funkcję ? Jak to sprawdzono ?
- 3) Jak zmienia się ekspresja genów badanych regulatorów w różnych czasach hodowli bakterii oraz ko-hodowli z innymi bakteriami w optymalnych warunkach laboratoryjnych – czy można wyniki z badań laboratoryjnych odnieść do warunków naturalnych, zwłaszcza gdy bakterie są elementem wielogatunkowego mikrobiomu jelit ?
- 4) W pierwszej pracy wykazano, że stres oksydacyjny zwiększa ekspresję tylko kilku genów kodujących rRNA i tRNA, zarówno w szczepie dzikim, jak i w mutancie pozbawionym genu kodującego HP1021. Dlaczego nie ma zmian we wszystkich genach z tej grupy ? Czy takie regulatory mogą mieć preferencje, np. do wybranych genów tRNA ?
- 5) Rysunek S12 w drugiej publikacji prezentuje w pozycji (C) „Western blot analysis of Abu0127 in AB and Δ Abu0127 strains.” Czy nie jest to raczej żel pokazujący wybarwione białka lizatu po elektroforezie ? Jeśli przeciwciała skierowane przeciwko białku StrEpAbud0127 wykazują tak niską specyficzność, to czy miało to wpływ na wyniki uzyskane w doświadczeniach ChIP-qPCR ?

Zasadniczo zadaniem Recenzenta jest ocena rozprawy doktorskiej. W przypadku mgr Mateusza Noszki nie można jednak pominąć całego dorobku naukowego, który obejmuje 5 dodatkowych prac opublikowanych w bardzo dobrych czasopismach naukowych (Medical Microbiology and Immunology, Nucleic Acids Research, Veterinary Microbiology, Microbial Genomics, Molecular Microbiology). Dlatego też, zarówno wyniki zawarte w opublikowanych pracach oraz nieopublikowane wyniki opisane w rozprawie doktorskiej, a także pozostały dorobek naukowy Doktoranta, niezwiązany ściśle z tematyką rozprawy doktorskiej, oceniam bardzo wysoko.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska Pana mgr Mateusza Noszki pod względem naukowym spełnia zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim. Także pod względem formalnym rozprawa ta spełnia warunki określone w artykule 187 ust. 1-4 Ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (t.j. Dz. U. 2023 poz. 742 z późn. zm.). Dlatego też, wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Biorąc pod uwagę znakomity poziom opublikowanych wyników uzyskanych w ramach pracy doktorskiej oraz ponadprzeciętną aktywność naukową Doktoranta wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr Mateusza Noszki.

Teresa Olas