

Recenzja pracy doktorskiej

pt. Czynniki transkrypcyjne

jako narzędzia masowego działania w ulepszaniu cech przemysłowych u drożdży

Autor: Maria Gorczyca

1. Podstawowe dane o kandydatce

Pani Maria Gorczyca uzyskała tytuł magistra w dniu 22 czerwca 2021 roku. Studia magisterskie odbyła na kierunku Biotechnologia, specjalizacja Biotechnologia przemysłowa, na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. Praca magisterska została wykonana w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Eweliny Celińskiej.

Przebieg pracy naukowo-zawodowej doktorantki wskazuje na konsekwentnie i logicznie realizowaną ścieżkę rozwoju naukowego w obrębie jednej dyscypliny. W latach 2016–2020 odbyła studia inżynierskie na kierunku Biotechnologia na UP w Poznaniu. Praca inżynierska została wykonana w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności pod kierunkiem Pani Profesor Celińskiej. Następnie, w latach 2020–2021, kontynuowała kształcenie na studiach magisterskich na tym samym kierunku i w tej samej jednostce, co pozwoliło na pogłębienie kompetencji badawczych oraz płynne przejście do realizacji pracy doktorskiej.

W latach 2021–2025 Pani Doktorantka była słuchaczką Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w dyscyplinie nauki biologiczne. Rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Eweliny Celińskiej. Równolegle od 2021 roku doktorantka pełni funkcję głównego wykonawcy w projekcie Narodowego Centrum Nauki OPUS 21 (nr 2021/41/B/NZ9/00086) pt. „Czynniki transkrypcyjne jako narzędzia masowego działania w ulepszaniu cech przemysłowych u drożdży”, którego kierownikiem jest Pani Profesor Celińska. Udział w projekcie o takiej randze i skali potwierdza wysoki poziom kompetencji badawczych doktorantki.

2. Ocena indywidualnego wkładu kandydatki w powstanie publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie cyklu pięciu publikacji naukowych, opublikowanych w renomowanych, międzynarodowych czasopismach naukowych. Analiza autorstwa oraz zakresu tematycznego poszczególnych prac wskazuje na znaczący, a w wielu przypadkach wiodący wkład Pani Doktorantki w ich powstanie.

W publikacjach, w których doktorantka występuje jako pierwszy autor, jej wkład obejmował sformułowanie koncepcji badawczej, zaplanowanie i wykonanie zasadniczej części badań eksperymentalnych, analizę i interpretację wyników, a także przygotowanie manuskryptu do publikacji. Dotyczy to w szczególności prac poświęconych systemowej analizie czynników transkrypcyjnych, wykorzystaniu naturalnych programów regulacyjnych w inżynierii *Yarrowia lipolytica* oraz globalnemu spojrzeniu na relacje pomiędzy regulacją transkrypcyjną a wydajnością syntezy białek rekombinowanych.

W pracach współautorskich doktorantka miała istotny udział w planowaniu eksperymentów, realizacji badań laboratoryjnych, analizie danych oraz współtworzeniu interpretacji wyników. Jej wkład miał charakter merytoryczny i twórczy, a nie jedynie techniczny. Szczególnie należy podkreślić udział w opracowaniu i analizie bazy danych YaliFunTome oraz pogłębionych badań nad czynnikiem Euf1 jako regulatorem promotorów erytrytolowych, obejmujących analizę struktury, splicingu i mechanizmów regulacyjnych.

Całość dorobku publikacyjnego składającego się na rozprawę doktorską świadczy o wysokim stopniu samodzielności naukowej, umiejętności prowadzenia złożonych badań interdyscyplinarnych oraz dojrzałości w interpretacji wyników, co jest szczególnie godne podkreślenia na etapie doktoratu.

3. Uwagi krytyczne i pytania do Autorki

Przedstawiona rozprawa doktorska charakteryzuje się bardzo wysokim poziomem merytorycznym, jednak - jak każda praca naukowa - pozostawia również przestrzeń do dalszej dyskusji i pogłębienia niektórych zagadnień. Moje uwagi i pytania mają charakter dyskusyjny i nie wpływają na jednoznacznie pozytywną ocenę pracy, a ich celem jest umożliwienie Autorce zaprezentowania dojrzałości naukowej oraz pogłębionego rozumienia mechanizmów molekularnych analizowanych w rozprawie.

- 1) W publikacji 1 poświęconej wpływowi czynników transkrypcyjnych na odporność stresową i syntezę białek rekombinowanych w *Y. lipolytica* wykazano wyraźne efekty fenotypowe wynikające z modulacji ekspresji wybranych regulatorów. Jako biologa molekularnego ciekawi mnie w jaki sposób – na podstawie dostępnych danych transkryptomicznych oraz wiedzy o sieciach regulacyjnych – można odróżnić bezpośrednie cele regulacyjne badanych czynników transkrypcyjnych od efektów wtórnych, np. wynikających z globalnej odpowiedzi komórki na stres lub obciążenie związane z produkcją białek. Jakie podejścia eksperymentalne byłyby najbardziej adekwatne do walidacji takich bezpośrednich interakcji na poziomie molekularnym.
- 2) Czy Pani zdaniem możliwe jest wskazanie uniwersalnych czynników transkrypcyjnych poprawiających oba parametry (odporność i wydajność syntezy), czy raczej należałoby projektować rozwiązania specyficzne dla danego produktu i warunków procesu?
- 3) W pracy 2 prezentującej bazę danych YaliFunTome zastosowano podejście integrujące dane transkryptomiczne pochodzące z różnych warunków eksperymentalnych. Chciałabym aby podczas obrony pracy doktorskiej odniosła się Pani do wyzwań związanych z porównywalnością i normalizacją takich danych.
- 4) Jestem również ciekawa Pani zdania czy i w jakim stopniu przyszłe wykorzystanie danych typu single-cell RNA-seq mogłoby pogłębić analizę heterogeniczności regulacji transkrypcyjnej w *Y. lipolytica*.
- 5) W pracy dotyczącej hodowli *Y. lipolytica* wskazano istotne rozbieżności pomiędzy wynikami uzyskiwanymi w mikrohodowlach a hodowlami w większej skali. Jakie parametry uważa Pani za kluczowe przy podejmowaniu decyzji, czy dane uzyskane w formatach wysokoprzepustowych mogą być wiarygodnie przeniesione do skali bioreaktorowej?
- 6) W Publikacji 4 przedstawiono globalne spojrzenie na zależności pomiędzy regulacją transkrypcyjną a syntezą białek rekombinowanych. Które zidentyfikowane przez Panią poziomy regulacji uważa Pani za najbardziej niedoceniane w obecnych strategiach inżynierii *Y. lipolytica*?
- 7) W publikacji 5 zaproponowano wykorzystanie czynnika Euf1 jako „titratora” promotorów indukowanych erytrytolem. Jakie są potencjalne ograniczenia stabilności takiego systemu regulacyjnego w długotrwałych procesach produkcyjnych i jak można by je przezwyciężyć? Czy Pani zdaniem analogiczne podejście mogłoby zostać

zastosowane do innych systemów promotorów indukowalnych w *Y. lipolytica* lub innych drożdżach niekonwencjonalnych?

4. Uzasadnienie wyróżnienia pracy doktorskiej

Przedstawiona rozprawa doktorska wyróżnia się w sposób jednoznaczny zarówno pod względem merytorycznym, jak i formalnym. Cykl pięciu publikacji naukowych, opublikowanych w latach 2023–2024 w uznanych międzynarodowych czasopismach, prezentuje poziom naukowy wyraźnie przekraczający standardowe wymagania stawiane pracom doktorskim. Zakres badań, ich spójność tematyczna oraz stopień zaawansowania metodologicznego sprawiają, że analogiczne zestawy publikacji w praktyce krajowej stanowiły nierzadko podstawę postępowań habilitacyjnych.

Praca wnosi istotny wkład w rozwój wiedzy dotyczącej regulacji ekspresji genów w niekonwencjonalnych drożdżach *Yarrowia lipolytica*, ze szczególnym uwzględnieniem roli czynników transkrypcyjnych w odpowiedzi stresowej i wydajności produkcji białek rekombinowanych. Oryginalność rozprawy polega na systemowym ujęciu zagadnienia, integrującym biologię molekularną, bioinformatykę oraz inżynierię metaboliczną, a także na wykorzystaniu podejścia „nature-inspired engineering”. Na szczególne wyróżnienie zasługuje opracowanie i udostępnienie bazy danych YaliFunTome, która stanowi trwałą wartość dla środowiska naukowego.

Metodologia zastosowana w pracy jest nowoczesna, wieloaspektowa i prowadzona z pełną świadomością ograniczeń technicznych oraz skalowalności procesów, co ma istotne znaczenie dla potencjalnych zastosowań przemysłowych. Całość rozprawy cechuje się wysoką spójnością, logiczną strukturą oraz klarownym rozwojem koncepcji badawczej.

Dodatkowym argumentem przemawiającym za wyróżnieniem pracy jest imponujący całokształt dorobku naukowego Pani Doktorantki, wykraczający poza publikacje włączone do rozprawy doktorskiej, obejmujący aktywny udział w projekcie NCN OPUS 21, współpracę naukową oraz konsekwentnie budowany, rozpoznawalny profil badawczy. Dorobek ten, w połączeniu z jakością rozprawy, świadczy o wyjątkowym potencjale naukowym autorki oraz jej gotowości do dalszego, samodzielnego rozwoju naukowego.

W związku z powyższym uważam, że rozprawa doktorska w pełni zasługuje na wyróżnienie przez Radę Naukową Dyscypliny Nauki Biologiczne Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

5. Wnioski końcowe

Podsumowując, przedstawiona rozprawa doktorska spełnia w pełni wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w obowiązujących przepisach prawa. Praca stanowi oryginalne i samodzielne osiągnięcie naukowe, wnosi istotny wkład w rozwój dyscypliny nauk biologicznych, a poziom merytoryczny, zakres przeprowadzonych badań oraz jakość dorobku publikacyjnego doktorantki wyraźnie przekraczają standardy oczekiwane na etapie doktoratu.

W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa doktorska w pełni zasługuje na dopuszczenie Pani Doktorantki do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne oraz jednoznacznie wnoszę o przyjęcie rozprawy i nadanie stopnia doktora. Jednocześnie, biorąc pod uwagę wybitny poziom naukowy rozprawy oraz imponujący dorobek naukowy doktorantki, wnoszę o wyróżnienie pracy doktorskiej przez Radę Naukową Dyscypliny Nauki Biologiczne Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.



dr hab. Kamilla Grzywacz, prof. ICHB PAN