

**Recenzja rozprawy doktorskiej**  
**magister Mileny Stolarskiej**

**pt. Zastosowanie metod filogenetycznych do badania pochodzenia, funkcji oraz oddziaływań pomiędzy białkami systemów opiekuńczych Hsp70/JDP**

Magister Milena Stolarska przygotowała rozprawę doktorską pod tytułem „**Zastosowanie metod filogenetycznych do badania pochodzenia, funkcji oraz oddziaływań pomiędzy białkami systemów opiekuńczych Hsp70/JDP**” pod kierunkiem profesora Jarosława Marszałka.

Celem przedstawionej rozprawy jest próba zrozumienia w jaki sposób przebiegała ewolucja systemów JDP/HSP70, które składają się z białek HSP70 i białek posiadających domenę J (białek JDP). Kompleksy te biorą udział między innymi w prawidłowym zwijaniu nowo syntetyzowanych białek, transport polipeptydów przez błony, a także zapobieganiu nieprawidłowej agregacji/dezagregacji białek. Białko JDP dostarcza odpowiedni substrat peptydowy do HSP70, które nadaje jemu prawidłową strukturę.

Biorąc więc pod uwagę fundamentalne znaczenie kompleksów Hsp70/JDP w biologii, poznanie ich historii ewolucyjnej ma bardzo istotne znaczenie.

**Ocena otrzymanych rezultatów.**

Przy pomocy metod filogenetycznych, doktorantka przeanalizowała przebieg historii ewolucyjnej kompleksów Hsp70/JDP.

Pierwszym istotnym wynikiem badań doktorantki było zbadanie historii ewolucyjnej białek JDP z gałęzi spokrewnionej z bakteryjnym białkiem DnaJ. Tradycyjnie białka JDP klasyfikowane są na następujące grupy: A, B i C, występujące zarówno u eukariontów jak i u bakterii. W swojej analizie doktorantka sprawdziła, czy białka z grupy A i grupy B tworzą stare gałęzie ewolucyjne. Wykonane analizy filogenetyczne sugerują jednak, że tak nie jest. Przedstawione w rozprawie drzewa filogenetyczne wskazują, że eukariotyczne białka JDP klasy B powstały z białek klasy A. Jest to z pewnością bardzo istotna obserwacja. Jednak z recenzenckiego obowiązku, muszę przyznać, że miałem bardzo duży problem ze zrozumieniem, w jaki sposób doktorantka identyfikowała białka, które należą do klasy A i do klasy B. Jeśli dobrze rozumiem, białka klasy B posiadają dwie lizyny wiążące domenę EEVD. Jedna z tych lizyn była obecna już u wspólnego przodka białek JDP z cytozolu i ER. Został on uznany za członka klasy A. Wspólny przodek cytoplazmatycznych JDP posiadał dwie lizyny i został uznany za członka grupy B. Następnie w cytoplazmatycznych białkach

JDP grupy A, lizyny te zostały zastąpione innymi aminokwasami. Natomiast w przypadku cytoplazmatycznych białek typu B lizyny te zostały zachowane. Nie jest dla mnie jasne, czy tego typu rozumowanie da się użyć do klasyfikacji bakteryjnych białek JDP. Dlatego, chciałbym poprosić doktorantkę o wyjaśnienie tego zagadnienia w czasie publicznej obrony.

Drugim istotnym wynikiem doktorantki było określenie historii ewolucyjnej systemów JDP/Hsp70 wyspecjalizowanych w biogenezie centrów żelazo-siarkowych. Wyniki uzyskanych badań sugerują, że podczas ewolucji mitochondriów bakteryjne białko Hsca z grupy Hsp70 zostało utracone, a jego funkcje przejęło białko mtHsp70 potomek bakteryjnego wielofunkcyjnego białka Hsp70 DnaK. Ponadto, wyniki te wskazują, że wyspecjalizowane białko Hsp70 w biogenezie centrów żelazo-siarkowych powstało stosunkowo niedawno u przodków drożdży.

Trzecim istotnym rezultatem doktorantki było wykrycie ko-ewolucji partnerskich białek JDP i Hsp70. Analiza jednak została ograniczona wyłącznie do regionu wiązania. Przypuszczam, że więcej informacji można uzyskać, jeśli do analizy użyje się całych sekwencji białkowych.

Bardzo wysoko oceniam metodologię badawczą. Doktorantka porównała analizowane białka przy pomocy metod opartych na pakiecie HMMER. Zastosowanie takiej metodologii pozwala na minimalizację błędów w porównaniach bardzo wielu sekwencji białkowych. Drzewa filogenetyczne zostały wyliczone przy pomocy różnych wariantów metody (maksymalnego prawdopodobieństwa) maksimum likelihood i metodą bayesowską. Przy pomocy metody największej wiarygodności Coew, doktorantka wykryła koewolucje między oddziałującymi pozycjami białek HSP70 i JDP.

### **Ocena formy przedstawionej rozprawy**

Rozprawa jest napisana w języku polskim. Ma popularną obecnie formę zszywki. Rezultatu są przedstawione w trzech rozdziałach. Ta część poprzedzona jest wprowadzeniem zawierającym następujące rozdziały: streszczenia w języku polskim i angielskim, „wstęp” i „cel pracy”. Według mnie, szkoda, że nie ma części podsumowującej całą pracę. Bardzo podoba mi się wstęp. W moim przekonaniu ryciny są bardzo starannie wykonane. Podsumowując, dobrze oceniam formę rozprawy.

### **Konkluzja**

Podsumowując opisane w rozprawie badania są niezwykle ciekawe, dotyczą bardzo istotnego zagadnienia z punktu widzenia rozwoju nauki. Doktorantka włożyła olbrzymią ilość pracy w wykonanie badań. Bardzo wysoko oceniam metodologię wykonanych badań. Na uwagę zasługuje fakt, że część wyników została już opublikowana. Wprawdzie doktorantka nie jest autorem wiodącym tych publikacji, to zostały one opublikowane w dobrych czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

Oceniana rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania zwyczajowe oraz stawiane przez ustawodawcę. Wnoszę o dopuszczenie doktorantki pani magister Mileny Stolarskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto proponuję rozważenie nagrodzenia wykonanej rozprawy według zwyczajów panujących na Uniwersytecie Gdańskim.