



**nencki institute**  
of experimental biology

POLSKA AKADEMIA NAUK  
**INSTYTUT BIOLOGII DOŚWIADCZALNEJ**  
**im. M. NENCKIEGO**

prof. dr hab. Grzegorz M. Wilczyński  
Kierownik Pracowni Neuromorfologii Molekularnej i Systemowej  
Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego  
ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa  
tel./fax: 5892355, e-mail: [gwilcz@nencki.gov.pl](mailto:gwilcz@nencki.gov.pl)

---

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr **Pauliny Rybak**  
pt. „Sygnalizacja i naprawa DNA w warunkach stresu replikacyjnego”

Fakt istnienia struktur wyższego rzędu w upakowaniu chromatyny, które mają znaczenie w warunkach zarówno transkrypcji, jak i replikacji coraz bardziej przebija się do świadomości uczonych. Okazało się bowiem, że chromatyna nie jest beładnie pozwijanym kłębkem lecz fraktalną globulą, w której poszczególne domeny oddziałują ze sobą na różnych poziomach. Miejsca tych oddziaływań można nazywać fabrykami replikacyjnymi i transkrypcyjnymi. Praca p. Rybak dotyczy więc najbardziej palących zagadnień współczesnej biologii. Ponieważ terapia cytostatyczna ciągle jest głównym narzędziem do walki z nowotworami, poznanie zupełnie nowych aspektów procesu replikacji może mieć niebagatelne znaczenie dla rozwoju tej dziedziny medycyny. Dlatego wybór tematyki pracy doktorskiej p. Rybak oceniam niezwykle trafnie

Przedstawiona mi do oceny rozprawa ma dla mnie układ nietypowy, ponieważ jest zbiorem czterech logicznie powiązanych publikacji; w dwóch z tych publikacji p. Rybak jest pierwszą autorką. Dotychczas nie spotkałem się z taką formą, lecz nie znaczy to, że uważam ją za gorszą, pod warunkiem, że wkład doktoranta w każdą z nich jest istotny. Do pracy załączono obszerne objaśnienie, co do roli poszczególnych współautorów, z którego wyłania się wyraźnie kształt doktoratu mgr Rybak, będący formą większej całości. Z oświadczenia tego wynika jasno, że p. Rybak miała bardzo znaczący wkład intelektualny, obejmujący nie tylko wykonywanie, ale też planowanie eksperymentów i interpretację wyników.

Zestaw prac poprzedzony jest wstępem, który wprowadza czytelnika w niuanse procesu replikacji oraz w najnowsze poglądy na ten temat zawierające m.in. koncepcję fabryk replikacyjnych. Mimo, że zakres tematyczny tego wstępu jest bardzo szeroki, doskonale udało się Autorce zachować zwięzłość opisu, dzięki czemu ta część pracy jest nie mniej ciekawa niż prace oryginalne i czyta się ją z przyjemnością. Chciałbym pochwalić tutaj nie tylko konstrukcję wstępu, ale także elegancki styl i poprawny język. Zaskakująco niska jest liczba literówek i innych błędów. Dotyczy to zresztą całej rozprawy. Co najważniejsze, po lekturze tego fragmentu, ogólny cel pracy staje się jasny, a wybór celów szczegółowych, w tym zestawu analizowanych białek i substancji,

zrozumiały i dobrze uzasadniony. Na szczególną pochwałę zasługuje też piękna szata graficzna wstępu do rozprawy.

Trzon pracy doktorskiej stanowią cztery spięte prac oryginalne. Ponieważ prace te były już recenzowane i opublikowane, powstrzymam się od ich dokładnego omawiania. W dwóch pierwszych pracach autorzy dokładnie badali zachowanie się fabryk replikacyjnych w różnych warunkach stresu replikacyjnego. Warunki te to stres oksydacyjnych oraz leki cytostatyczne będące inhibitorami topoisomeras, takie jak kampotecyna, mitoksantron czy etopozyd. Okazało się, że istnieją rozbieżności pomiędzy rodzajem substancji i rodzajem stresu, a przestrzenną dystrybucją fabryk replikacyjnych i miejsc uszkodzeń DNA. W kolejnej pracy, autorzy pokazali, że istnieje również korelacja pomiędzy dystrybucją fabryk replikacyjnych, miejsc uszkodzeń DNA oraz lokalizacją mechanizmów naprawczych, a fazą replikacji. Ponadto zasugerowali oni, że powszechnie uznana sygnalizacja uszkodzeń DNA, czyli obecność fosforylowanego histonu H2AX ( $\gamma$ H2AX) nie musi jednoznacznie wskazywać na obecność uszkodzeń DNA. W końcu też autorzy analizowani drobiazgowo powstawanie fabryk replikacyjnych *de novo*, już w warunkach działania stresu replikacyjnego. Prace doktorską mgr Rybak wieńczy podrozdział "Perspektywy badawcze" będący także formą dyskusji nad całością pracy; tekst ten czyta się z wielkim zainteresowaniem.

Na szczególne podkreślenie w zaprezentowanej rozprawie zasługuje jakość dokumentacji mikroskopowej. Prezentowane są obrazy zapierające dech w piersiach zarówno pod względem merytorycznym, jak również estetycznym. Z załączonych oświadczeń o współautorstwie wynika, że dokumentacja mikroskopowa jest w całości dziełem p. Rybak, co świadczy o niej jako o wybitnym i dojrzałym morfologu.

Podsumowując rozprawa doktorska p. Rybak zawiera nowe i niezwykle ciekawe obserwacje. Zatem, moim zdaniem praca spełnia wszelkie wymagania stawiane dysertacjom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie jej Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na oszałamiająco rozległe podejście to tematu, będące próbą zbadania całokształtu złożonego zjawiska cytofizjologicznego, proponuje wyróżnienie rozprawy.



Grzegorz Wilczyński