



**INSTYTUT
GENETYKI CZŁOWIEKA**
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Rozprawa doktorska

**Rola białek RBMXL3 oraz DDX53 w regulacji
metabolizmu RNA w komórkach linii płciowej człowieka**

mgr Agata Jolanta Barszcz

Rozprawa doktorska została przygotowana w Instytucie Genetyki
Człowieka Polskiej Akademii Nauk

Promotor:

dr hab. n. med. Natalia Rozwadowska, prof. IGC

Poznań, 2026

Streszczenie

Spermatogeneza człowieka jest wysoce zorganizowanym i dynamicznym procesem, którego odtworzenie w warunkach *in vitro* pozostaje dotychczas nieosiągnięte. Prawidłowy przebieg tego procesu wymaga precyzyjnej koordynacji czasowej i przestrzennej ekspresji genów, sygnalizacji molekularnej oraz rozległego przeprogramowania epigenetycznego. Niestety, wiele kluczowych regulatorów molekularnych mających znaczenie dla różnicowania męskiej linii płciowej wciąż pozostaje niepoznanych. Badania genetyczne wykorzystujące technologie sekwencjonowania całego genomu (WGS) oraz całego egzomu (WES) pozwoliły zidentyfikować geny *RBMXL3* oraz *DDX53* jako potencjalnie związane z procesem spermatogenezy człowieka.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej, która stanowi zbiór trzech artykułów naukowych, była identyfikacja sieci powiązań oraz molekularnych interaktorów białek *RBMXL3* oraz *DDX53* w kontekście rozwoju męskich komórek płciowych i spermatogenezy człowieka. We wstępie rozprawy doktorskiej opisano procesy związane z metabolizmem RNA oraz rolę przykładowych białek wiążących RNA w procesie tworzenia męskich gamet, które zostały już częściowo poznane. W pierwszej publikacji przedstawiono przegląd strategii badawczych przydatnych w kontekście badań nad rozwojem ludzkiej linii płciowej i spermatogenezy człowieka. Kolejne dwie publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej to prace oryginalne, których celem było zbadanie białek *RBMXL3* oraz *DDX53*. W celu potwierdzenia znaczenia tych białek dla rozwoju męskich komórek płciowych i spermatogenezy człowieka wykorzystano linię komórkową nowotworu jądra TCam-2. W zaprezentowanych badaniach przygotowano odpowiednie modele komórkowe z wykorzystaniem komórek TCam-2 w celu uzyskania ekspresji białek *RBMXL3*, *DDX53* oraz GFP (oznakowane epitopem FLAG). Ekspresję badanych białek potwierdzono na poziomie RNA i białka z wykorzystaniem technik molekularnych, takich jak RT-qPCR, Western blot oraz immunofluorescencji. W celu identyfikacji sieci powiązań oraz molekularnych interaktorów białek *RBMXL3* i *DDX53* przeprowadzono analizy RNA-seq, eCLIP oraz Co-IP-MS. Uzyskane wyniki umożliwiły identyfikację genów o zróżnicowanej ekspresji i alternatywnym splicingu, a także cząsteczek RNA i białek bezpośrednio oddziałujących z *RBMXL3* oraz *DDX53*. Interpretacja wyników koncentrowała się na molekularnych celach opisanych w literaturze jako związanych z różnicowaniem męskich komórek linii płciowej. Istotnym elementem badań była również analiza lokalizacji subkomórkowej badanych białek w komórkach TCam-2, wykonana za pomocą frakcjonowania komórek połączonego z Western Blot, a także podwójnych barwień immunofluorecencyjnych. Dodatkowo obecność obu białek

potwierdzono w skrawkach męskiej gonady metodą immunohistochemii z użyciem specyficznych przeciwciał.

Uzyskane wyniki pozwoliły na potwierdzenie roli białek RBMXL3 oraz DDX53 w regulacji procesów zachodzących w męskich komórkach płciowych człowieka.