



**Rada Naukowa
Instytutu Genetyki Człowieka
Poleskiej Akademii Nauk w Poznaniu**

Imię i nazwisko kandydata: mgr Agata Jolanta Barszcz

Tytuł rozprawy doktorskiej: Rola białek RBMXL3 oraz DDX53 w regulacji metabolizmu RNA w komórkach linii płciowej człowieka

Promotor/promotorzy: dr hab. n. med. Natalia Rozwadowska, prof. IGC

Promotor pomocniczy (jeżeli powołany): x

Recenzent: Prof. dr hab. Małgorzata Kotula-Balak

1. Tematyka rozprawy

Na dysertację Pani mgr Agaty J. Barszcz składają się trzy publikacje, w tym jedna praca przeglądowa Barszcz i Rozwadowska (brak danych: wysłana, w recenzji?) i dwie prace eksperymentalne: Barszcz i wsp. *Cell Mol Biol Lett* 2026 oraz Barszcz i wsp. *bioRxiv* 2026. W oryginalnych artykułach Doktorantka podjęła próbę scharakteryzowania roli nowych i dotąd niepoznanych w pełni białek kontrolujących homeostazę komórki poprzez wiązanie RNA i jego metabolizm. Autorka realizując powyższe prace, zauważyła istotność precyzyjnego podejścia do zbadania nowych poziomów kontroli spermatogenezy, mianowicie przez białka RBMXL3 oraz DDX53 w komórkach spermatogenicznych oraz ich regulacji w celu wytyczenia i rozwinięcia nowych podejść terapeutycznych u pacjentów z niepłodnością. Badania genetycznego podłoża męskiej niepłodności zostały przed wieloma laty merytorycznie nakreślone przez Pana Profesora dr hab. Macieja Kurpisa. Pracując w Zespole kierowanym przez Panią Promotor dr hab. Natalię Rozwadowską, prof. IGC Pani mgr A.J. Barszcz zyskała możliwość wdrożenia nowoczesnych technik i modeli doświadczalnych w analizach nakierowanych na poznanie wielopoziomowej regulacji procesu spermatogenezy oraz niezbadanych mechanizmów jej zaburzeń w obliczu globalnego kryzysu płodności męskiej w ostatnich latach. Konkludując, tematyka rozprawy dotyczy zagadnień istotnych dla rozwoju dyscypliny nauki medyczne w szczególności uzyskane po raz pierwszy cenne i liczne dane stanowią ważki wkład m.in. w andrologię, genetykę rozrodu, epigenetykę, biologię medyczną oraz biologię komórki.



2. Wiedza kandydata

Po zapoznaniu się z zawartością rozprawy doktorskiej pani mgr Agaty J. Barszcz nie mam wątpliwości, że Doktorantka posiada bardzo dobrą i szczegółową wiedzę z zakresu epigenetyki i genetyki funkcjonowania męskiego układu rozrodczego, a w szczególności gonady ssaków, w tym człowieka. Na wiedzę tę wskazują bezpośrednio: informacje przedstawione we Wstępie rozprawy oparte na najnowszych danych literaturowych, prawidłowo stosowana nomenklatura biologiczna i medyczna oraz pełne zrozumienie i bieżące dokształcenie merytoryczne i metodyczne w powyższym obszarze badawczym (publikacja nr 1), a następnie kolejność, jakość zaprojektowanych i wykonanych technicznie badań oraz wielokierunkowa dyskusja badań na tle wiedzy światowej (publikacje nr 2 i nr 3).

Publikacja przeglądowa (praca nr 1) przedstawia zdobytą wiedzę i odzwierciedla aktywne jej pogłębienie przez Autorkę. Mgr Barszcz dostrzegła uzupełnienia wiedzy o procesie spermatogenezy (i) z uwzględnieniem specyficznych dla zwierząt i człowieka różnic, (ii) złożoności kontroli epigenetycznej i genetycznej komórek spermatogenicznych, (iii) konieczności doskonalenia modeli i systemów badawczych, a także (iv) stosowania, poza powszechnymi, niekonwencjonalnych metod badawczych. Co istotne, Doktorantka przedstawiła także (iv) mechanizmy komórkowe regulujące proces powstawania gamet męskich m.in. interakcje z komórkami somatycznymi zarówno przedziału kanalikowego, okołokanalikowego, jak i interstytium, a także struktury regulacyjne, np. bariera krew-jądro. Pani mgr A. J. Barszcz skrupulatną uwagę skierowała na modele badawcze, poczynając od systemu *in vitro* reprogramowanych spermatogonialnych komórek macierzystych, pierwotnych komórek spermatogenicznych, jak również pierwotnych komórek somatycznych i linii komórkowych. Autorka przedstawiła modele hodowli organotypowych 2D (wybrane komórki spermatogeniczne wraz z wybranymi komórkami somatycznymi) oraz modele 3D (odzwierciedlające w bardzo wysokim stopniu strukturę gonady *in vivo*) z włączeniem organoidów i organotypowego systemu hodowli. Ponadto opisała najnowocześniejsze systemy badawcze, tj. bioinżynieryjne platformy mikroprzepływowe typu testis-on-a-chip (najbardziej wyszukane, dynamiczne, umożliwiające wielkoskalowe badania w precyzyjnie kontrowanym lub dowolnie modulowanym środowisku eksperymentalnym). Doktorantka przedstawiała też korzyści i ograniczenia poszczególnych modeli oraz przyszłą perspektywę tych systemów badawczych, ale nie odniosła się do modelowania konkretnych (przykładowych) zaburzeń genetycznych leżących u podstaw zakłócenia spermatogenezy, a także do wpływu substancji chemicznych: leków czy związków aktywnych hormonalnie obecnych w środowisku. Szkoda, że nie omówiono również techniki organotypowej (hodowli eksplantów gonady), która jest wciąż uznanym systemem badawczym *ex vivo*.

Natomiast przeszukując bazy publikacji, zauważyłam, że podobne opracowania jak praca przeglądowa (nr 1) już powstały. Do części z nich pani mgr Barszcz się odniosła w swoim studium, jednak niektóre istotne prace pozostały nieuwzględnione (Gizer i wsp., 2024; Kulibin i Malolina, 2023).



3. Samodzielność kandydata

Oceniane artykuły stanowiące rozprawę doktorską wskazują na samodzielność Doktorantki w prowadzeniu pracy naukowej. Nie powstałyby, gdyby nie zaangażowanie pierwszego autora na wszystkich etapach ich powstawania, co umożliwiło dopuszczenie pani mgr A. Barszcz do etapu recenzji dysertacji w przewodzie doktorskim. Na samodzielność wskazują także pewne niedoskonałości przedstawione powyżej w pracy przeglądowej nr 1 i poniżej w pracach eksperymentalnych nr 2 i nr 3 (patrz sekcja 5). Bardzo istotne jest podkreślenie w tym miejscu jeszcze raz, że Kandydatka rozumie wagę obecnych badań dających odpowiedź, jak powstaje i jak można leczyć niepłodność męską na poziomie komórkowym (poprzez np. spermatogonialne komórki macierzyste czy ultrastrukturalnie) oraz molekularnym (m.in. poprzez terapie ukierunkowane na geny, ich warianty, produkty białkowe czy interakcje molekularne). Pani mgr Barszcz ma wszelkie podstawy merytoryczne oraz techniczne do przygotowania, prowadzenia badań i analizowania wyników z użyciem wielkoskalowych, nowoczesnych technik badawczych, których używała, prowadząc eksperymenty. Opublikowana już praca nr 2 (Barszcz i wsp. *Cell Mol Biol Lett* 2026) pozytywnie przeszła wysokie wymagania redaktora i recenzentów. W pracy tej Autorka (i) scharakteryzowanie roli białka RBMXL3 w spermatogenezie, (ii) zbadanie regulacji metabolizmu RNA z wykorzystaniem m.in. RNA-seq, eCLIP oraz proteomiki, które potwierdziły, że białko to wpływa na stabilność transkryptów, dynamikę transkryptomu oraz alternatywne składanie w komórkach spermatogenicznych, (iii) ujawnienie po raz pierwszy subkomórkowej lokalizacji RBMXL3, (iv) wykazanie, że RBMXL3 pełni kluczową funkcję w utrzymaniu integralności genomu, ponieważ hamuje retrotranspozycję elementów LINE-1.

Praca nr 3 (Barszcz i wsp., *bioRxiv* 2026), pozwoliła Doktorantce na publiczne zmierzenie się z konstruktywną krytyką (artykuł przed publikacją był umieszczony w ogólnodostępnej recenzji online) jednak także i przede wszystkim na pochwalenie najważniejszych rezultatów pracy, do których należą m.in. (i) przedstawienie pierwszej globalnej mapy interakcji białka DDX53 z RNA, potwierdzającej jego kluczową rolę jako regulatora metabolizmu RNA oraz (ii) alternatywnego składania w komórkach plemnikotwórczych, a także (iii) zidentyfikowanie wpływu DDX53 na gen *LRRC8A*, co rzuca nowe światło na genetyczne przyczyny męskiej niepłodności. Do badania zostały zastosowane nowoczesne techniki wieloprzepustowe eCLIP (do precyzyjnego mapowania miejsc wiązania białko-RNA), sekwencjonowanie RNA-seq oraz multiomiczne: spektrometria mas (Co-IP-MS; do badania proteomu).

4. Oryginalność rozprawy

Pace eksperymentalne autorstwa mgr A. J. Barszcz wykazują bardzo wysoki stopień oryginalności, wnoszą nową wiedzę o roli białek DDX53 i RBMXL3 oraz ich interakcji w spermatogenezie człowieka z uwzględnieniem m.in. alternatywnego składania modyfikującego strukturę i warianty dojrzałego mRNA dla genu *LRRC8A* (DDX53), unikalny mechanizm ochrony genomu przed retrotranspozycją elementów LINE-1 (RBMXL3) oraz nowatorskie podejście do analizy genów specyficznych dla naczelnych przy użyciu techniki eCLIP, uzyskując mapę globalnego interaktomu RNA w ludzkich komórkach spermatogenicznych. Warto także podkreślić, iż po raz pierwszy mikroskopowo stwierdzono, że DDX53 tworzy w cytoplazmie struktury kondensacyjne przypominające ziarnistości pćiowe, unikalne i stanowiące ochronę informacji genetycznej przekazywanej potomstwu. Rezultaty te mają dobry potencjał do ich wykorzystania w diagnostyce niepłodności (na poziomie



ultrastrukturalnym i molekularnym), a także mogą być podstawą przygotowania oczekiwanych specyficznych testów diagnostycznych.

5. Pytania i/lub uwagi krytyczne, na które Recenzent oczekuje odpowiedzi kandydata w czasie obrony:

1. Zabrakło ogólnej dyskusji wiążącej główne wyniki badań prac stanowiących dysertację.
2. Ograniczeniem prac eksperymentalnych jest użycie linii nowotworowej jądra (TCam-2). Jak Doktorantka rozwinęłaby te badania? Ponadto, w technice eCLIP eksperymentalnie wywołano nadekspresję białka. Czy Doktorantka jest świadoma, jakie mogą być następstwa zaindukowanej sztucznie nadekspresji białka w komórce i jej wpływ na otrzymane wyniki?
3. Skoro globalny trend spadku płodności u mężczyzn jest tak gwałtowny, to w jakim stopniu nowo odkrywane warianty genetyczne są wynikiem stałych mutacji populacyjnych, a w jakim mogą podlegać innym wpływom, jakim?

6. Inne spostrzeżenia dotyczące treści lub formy rozprawy (opcjonalnie): brak

7. Ocena końcowa:

Ja, niżej podpisana, stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **mgr Agaty J. Barszcz** spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej IGC PAN w Poznaniu o dopuszczenie **mgr Agaty J. Barszcz** do dalszych etapów postępowania ws. nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych.

TAK/~~NIE~~(*)

Ja, niżej podpisana wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

~~TAK~~/~~NIE~~(*)

Uzasadnienie wniosku (w przypadku zaznaczenia odpowiedzi TAK)

.....
data sporządzenia recenzji

.....
podpis recenzenta

(*) niepotrzebne – skreślić.