

## Recenzja pracy doktorskiej pt. "Regulacja metabolizmu aminokwasów poprzez aktywność aparatu Golgiego" mgr Wiolety Banaszuk.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Wiolety Banaszuk została wykonana pod kierunkiem dr hab. Marka Tchórzewskiego oraz dr Dawida Krokowskiego w Instytucie Nauk Biologicznych, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.

### Ocena wartości naukowej:

Praca doktorska dotyczy regulacji poziomu aminokwasów wewnątrz komórki i związanych z tym szlaków sygnałowych powiązanych z translacją, takich jak zależne od kinaz mTOR i GCN2. Na te procesy wpawają białka błonowe uczestniczące w transporcie aminokwasów, które tworzą złożoną sieć. Liczba i aktywność tych transporterów na powierzchni komórki są ściśle związane z potrzebami komórki dotyczącymi aminokwasów. Wiele z tych transporterów jest glikoproteinami, które przechodzą przez proces N-glikozylacji w retikulum endoplazmatycznym i aparacie Golgiego, co ma kluczowe znaczenie dla ich prawidłowego funkcjonowania, lokalizacji i funkcji transportowej.

Doktorantka w swoich badaniach skupiła się na transporterze aminokwasów SNAT2 i starała się zrozumieć rolę N-glikozylacji w aparacie Golgiego. Modelem badawczym był stres osmotyczny, przy którym transporter aminokwasowy SNAT2 odgrywa istotną rolę w dostosowaniu się komórki do takiego stresu. Ponadto, badano również mechanizmy adaptacji komórkowej w odpowiedzi na zwiększoną osmolarność otoczenia oraz wpływ akumulacji aminokwasów na regulację szlaku sygnałowego kinazy ERK1/2 w warunkach stresu hiperosmotycznego. Pytania badawcze są interesujące i miały potencjał przyczynienia się do poszerzenia naszej wiedzy.

Badając poszczególne szlaki sygnałowe, doktorantka wykazała, że dostosowanie się komórki do warunków podwyższonej osmolarności nie zależy od szlaku sygnałowego ISR. Zgodnie z przewidywaniami, mechanizm adaptacji do zmian osmotycznych wymaga produkcji SNAT2 oraz GADD34. Odpowiednio z-glikozylowana forma SNAT2 umożliwia wychwyt aminokwasów, co wspólnie z antyporterami LAT1 i ASCT1 prowadzi do przywrócenia równowagi w komórce i ponownej aktywacji mTORC1, co z kolei pozwala na efektywną syntezę białek, która została pierwotnie zahamowana w odpowiedzi na stres osmotyczny. Zaburzenie procesu N-glikozylacji w cysternach trans-Golgi ma wpływ na dojrzewanie, lokalizację i aktywność SNAT2 oraz uniemożliwia adaptację komórki do stresu hiperosmotycznego. Ponadto, brak UDP-galaktozy w cysternach trans-Golgi prowadzi do zaburzeń poziomów aminokwasów wewnątrz komórki, co utrudnia adaptację do stresu hiperosmotycznego.

Autorka wykazała również, że akumulacja aminokwasów reguluje szlak sygnałowy kinazy ERK1/2 w warunkach stresu hiperosmotycznego, niezależnie od czynników wzrostu.

Zaproponowany został mechanizm, w którym zwiększone stężenie aminokwasów prowadzi do rozproszenia kondensatów bimolekularnych SHP2, co skutkuje dezaktywacją kinazy ERK1/2 w fazie adaptacji do stresu osmotycznego.

Najważniejsze wyniki to pokazanie, że modyfikacje N-glikanu transporterów SNAT2 w aparacie Golgiego są kluczowe dla adaptacji komórki do stresu hiperosmotycznego. Akumulacja aminokwasów poprzez sieć transporterów aminokwasowych pozwala na przywrócenie równowagi w komórce i reguluje aktywność kinazy ERK1/2. Zrozumienie roli aparatu Golgiego jest istotne dla poznania metabolizmu komórki oraz mechanizmów jej adaptacji do stresu. Uzyskane wyniki dostarczają nowej interesującej wiedzy, a część z nich znalazła się w publikacji wydanej w prestiżowym czasopiśmie "Cell Reports". Autorka wykazała się również wykorzystaniem szerokiego wachlarza nowoczesnych technik badawczych, głównie związanych z badaniem hodowli komórkowych i analizami metabolicznymi. Pewien niedosyt pozostawia brak mechanistycznych analiz, które mogłyby bardziej dogłębnie zweryfikować wnioski badawcze.

#### **Ocena formalnej strony pracy:**

Praca ma klasyczną budowę i składa się ze wstępu, rozdziału opisującego metody, wyniki oraz dyskusję. Praca zawiera wymagane streszczenie w języku angielskim i polskim. Bibliografia jest bardzo bogata i zawiera aż 340 cytowań. Praca jest napisana jasnym, zrozumiałym językiem, dzięki czemu czytelnik nie ma problemu z jej śledzeniem.

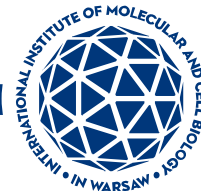
We Wstępie Autorka wprowadza czytelnika w tematykę pracy, opisując ścieżki sygnałowe związane z translacją, transportery aminokwasów, glikozylację białek oraz odpowiedzi stresowe.

Sekcja Materiały i Metody jest dokładnym spisem zastosowanych metod badawczych oraz użytych materiałów. Ta część pracy jest wyczerpująca i nie mam do niej uwag krytycznych. Autorka pracy szczegółowo opisała wykorzystane metody użyte w pracy.

Wyniki są opisane w sposób niezwykle klarowny, a ryciny przygotowano z należytą starannością. Opis zawiera ciąg logiczny i dla czytelnika jest całkowicie jasny, dlatego taki a nie inny eksperyment został wykonany i jakie płyną z niego bezpośrednie wnioski. Wyniki są jasne i wiarygodne, co jest dużą wartością tej dysertacji.

Diskusja jest wyróżniającą się częścią dysertacji. Autorka wykazała się głęboką wiedzą w tematyce pracy, co pozwoliło na dogłębne przedyskutowanie wyników na tle istniejących danych. Dyskusja podzielona jest na kilka sekcji i każda z nich jest zakończona hipotezami, które w przyszłości można sprawdzić eksperymentalnie. Chętnie w czasie obrony usłyszę od Autorki jej pomysły na kontynuację badań i weryfikację postawionych przez nią hipotez.

Podsumowując, stwierdzam, że przedłożona mi do oceny praca mgr. Wiolety Banaszuk spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). Dlatego też z całym przekonaniem zwracam się do



Rady Naukowej Instytutu Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie mgr. Wiolety Banaszuk do dalszych etapów przewodu doktorskiego i popieram wniosek o nadanie jej stopnia naukowego doktora. Ponadto, ze względu na jej wysoki poziom naukowy, proszę Radę o rozważenie możliwości wyróżnienia rozprawy.