

*Ocena rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Wojton*

*pt. "Niekonwencjonalna miozyna VI jako potencjalny regulator metabolizmu mięśni szkieletowych"*

Miozyny niekonwencjonalne stanowią heterogenną grupą białek motorycznych, które odgrywają ważne funkcje w różnych procesach komórkowych. W przeciwieństwie do konwencjonalnych miozyn, które są głównie zaangażowane w skurcz mięśni, miozyny niekonwencjonalne biorą udział w takich procesach jak transport wewnątrzkomórkowy, endocytoza, egzocytoza, czy utrzymanie kształtu komórki. Rola miozyny VI w komórkach niemięśniowych została dobrze poznana. Białko to ma zdolność przemieszczania się w kierunku końca minus filamentu aktynowego transportując m. in. pęcherzyki, organelle czy elementy aparatu Golgiego. Badania prowadzone w Pracowni Molekularnych Podstaw Ruchów Komórkowych Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN, pod kierunkiem prof. Dr hab. Marii Jolanty Rędownicz, poruszają zagadnienia dotyczące roli miozyny VI i jej izoform w mioblastach oraz mięśniach szkieletowych. Badania grupy prof. Rędownicz wykazały, że miozyna VI stabilizuje organelle komórkowe, czy receptory acetylocholino w złączach nerwowo-mięśniowych włókna mięśniowego. Zespół prof. Rędownicz wykazał również, że miozyna VI kontroluje takie procesy jak replikacja, czy naprawa DNA oraz transkrypcja i transport RNA. Podczas różnicowania mięśni za migrację oraz adhezję mioblastów również odpowiedzialna jest miozyna VI.

W projekcie doktorskim, Doktorantka podjęła się badań dotyczących roli miozyny VI w metabolizmie mięśni szkieletowych. Przystępując do realizacji projektu doktorskiego Pani mgr, w oparciu o dotychczasowe badania oraz dostępną literaturę, czytelnie przedstawiła główne założenia oraz cele badawcze (manuskrypt str. 44). Zabiegi te miały na celu wykazanie roli miozyny VI w metabolizmie mięśni szkieletowych.





Rozprawa doktorska, wraz ze streszczeniem, wykazem stosowanych skrótów, listą publikacji własnych, piśmiennictwem obejmującym 177 pozycji literatury, liczy 122 strony. Układ pracy oraz podział na rozdziały i podrozdziały jest bardzo klarowny i odpowiada standardom pracy naukowej. W manuskrypcie Doktorantka zawarła również czytelne schematy oraz tabele, które w znacznym stopniu ułatwiły zrozumienie zagadnień podejmowanych w rozprawie dyktatorskiej. W tym miejscu chciałabym zaznaczyć, że pod względem edytorskim praca została bardzo dobrze przygotowana.

Rozdział *Wstęp* został przygotowany przez Doktorantkę w sposób czytelny. Na uwagę zasługuje fakt, że Pani mgr wybrała do wstępu tylko te informacje, które stanowiły istotę analizowanych w projekcie doktorskim zagadnień. Czytelnik nie został w ten sposób przytłoczony informacjami mniej istotnymi, które mogłyby zaburzyć obraz podejmowanych wyzwań badawczych. W rozdziale *Wstęp*, Pani mgr przedstawiła m. in. budowę mięśni szkieletowych, w tym rodzaje mięśni. Ważnymi rozdziałami były te, w których została zawarta aktualna wiedza dotycząca metabolizmu energetycznego mięśni. Pani mgr, poświęcała swoją uwagę zagadnieniom „głównego bohatera” rozprawy doktorskiej, jakim jest miozyna VI. Rozdział ten, ściśle związany z tematem i celem pracy, został opracowany w oparciu o doniesienia z najnowszej literatury światowej.

W rozdziale *Materiał i Metody*, Doktorantka opisała szereg procedur wykonanych podczas realizacji projektu. Ta część rozprawy napisana jest z dużą precyzją. Wyniki uzyskane przez Panią mgr prowadzone były w oparciu o najnowsze techniki stosowane w biologii molekularnej. Autorka rozprawy doktorskiej zastosowała szeroką gamę metod takich jak: immunofluorescencja, histochemia, Western blot, ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-qPCR), analiza metabolizmu energetycznego czy metoda pomiaru poziomu ATP.

Badania dotyczące udziału MVI w metabolizmie mięśni szkieletowych, Doktorantka przeprowadziła z wykorzystaniem myszy *Snell's waltzer* (*SV; MVI-KO*), nie syntezujących funkcjonalnej miozyny VI (szczep C57BL/6J). Badania prowadzone były na mięśniach



szkieletowych pochodzących z kończyny tylnej myszy. Mięśnie pobierano od zwierząt nowonarodzonych (P0) oraz 3 i 12-miesięcznych (3-m, 12-m).

Ponadto, w badaniach wykorzystano linię mioblastów mysich C2C12 z obniżonym poziomem miozyny VI oraz mioblastów otrzymanych z hodowli pierwotnych tj. mięśni kończyny tylnej 3-m myszy MVI-KO.

Prawidłowo i jasno wyznaczony cel pracy oraz właściwie zastosowane technik badawczych pozwoliły Doktorantce na uzyskanie interesujących wyników o wartości poznawczej. Doktorantka wykazała, że :

1. Miozyna VI obecna jest w mięśniach kończyny tylnej myszy P0. Poziom transkryptu i białka MVI zależy od typu mięśnia, w tym najwyższe wartości zaobserwowano w mięśniu SOL (wolno kurczliwym) dorosłych myszy.
2. U myszy MVI-KO największe zmiany w wielkości i ilości włókien mięśniowych występują u myszy nowonarodzonych oraz w mięśniu SOL. Ponadto, zaobserwowano zmniejszenie liczby jąder we włóknach mięśniowych.
3. Myszy MVI-KO wykazują tendencję do przemiany włókien mięśniowych z typu glikolitycznego na oksydacyjny. Najistotniejsze zmiany zaobserwowano w mięśniu SOL.
4. MVI kolokalizuje z mitochondriami, a obniżenie poziomu lub całkowity brak MVI powoduje zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów.
5. Dysfunkcja mitochondriów przejawia się obniżeniem poziomu produkcji ATP, nasilającym się wraz z wiekiem.
6. U myszy MVI-KO brak MVI wpływa na aktywację AMPK oraz obniżenie poziomu białek zaangażowanych w szlak mTOR .
7. Brak MVI prowadzi do obniżenia aktywności białek zaangażowanych w szlak cAMP/PKA (głównie u myszy P0).
8. Brak MVI wpływa na wzmożoną lipolizę oraz znaczący spadek trójglicerydów w mięśniach szkieletowych.





Wyniki uzyskane przez Doktorantkę są wartościowe i w pełni dowodzą o istotnej roli MVI w metabolizmie komórek miogennych i mięśni szkieletowych.

*Pytania i uwagi do Doktoranki:*

- Wiadomo, że mitochondria we wszystkich rodzajach komórek zwierzęcych tworzą rozbudowane sieci, czy sądzi Pani że u myszy MVI-KO, oprócz spadku ich aktywności syntetycznej, może dochodzić do upośledzenia fuzji czy podziału mitochondriów w sieci?
- myślę, że Pani mgr myli pojęcia dotyczące definicji procesów katabolicznych i anabolicznych. Lipoliza jest procesem rozkładu, czyli katabolicznym. Natomiast lipogeneza jest procesem syntezy, czyli anabolicznym (str. 90).

Ostatni rozdział *Dyskusja* został bardzo dobrze i wyczerpująco opracowany przez Doktorantkę. W dyskusji zawarte zostały wszystkie zagadnienia, które Autorka ujęła w założeniach i celach pracy. Omawiając w tym rozdziale wyniki swoich badań, Pani mgr w logiczny i bardzo precyzyjny sposób starała się wyjaśnić, w oparciu o najnowsze doniesienia z literatury światowej, podłoże oraz mechanizmy dotyczące wpływu braku MVI na metabolizm mięśni i strukturę mięśni szkieletowych. Dyskusja zawiera również wnioski samodzielnie wyciągnięte przez Doktorantkę. Świadczy to o dobrym przygotowaniu merytorycznym oraz dojrzałości naukowej Pani mgr.

***Podsumowanie:***

Praca doktorska Pani mgr Dominiki Wojton dostarczyła wielu ciekawych oraz dotychczas nie poznanych funkcji miozyny VI w mięśniach szkieletowych. Wyniki te uważam za oryginalne i wysoce wartościowe, o znacznych walorach poznawczych. Ponadto, Pani magister jest współautorką w 4 oryginalnych publikacjach naukowych (w tym jednej w recenzji), wydanych w prestiżowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym oraz jednej publikacji przeglądowej.

Rozprawa doktorska mgr Dominiki Wojton pt. *“Niekonwencjonalna miozyna VI jako potencjalny regulator metabolizmu mięśni szkieletowych”* spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim. W mojej ocenie rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z





dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z póź. zm.). Na tej podstawie wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marceliego Nenckiego PAN o dopuszczenie mgr Dominiki Wojton do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

W mojej ocenie rozprawa doktorska Pani mgr Dominiki Wojton jest wyróżniająca się, czego dowodem są uzyskane oryginalnie wyniki oraz wysoki poziom przygotowania merytorycznego oraz metodycznego Doktorantki. Na tej podstawie wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani mgr Dominiki Wojton.

Wrocław, dn. 10. 02. 2025 r.

Małgorzata Daczewska

Prof. AWF dr hab. Hanna Drzymała-Celichowska  
Zakład Neurobiologii/Zakład Biochemii  
Wydział Nauk o Zdrowiu  
Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu

---

**Recenzja rozprawy doktorskiej pani mgr Dominiki Wojton  
w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora**

Podstawa prawna:

*Recenzję sporządzono zgodnie z art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.)*

**Ocena pracy**

Pani mgr Dominika Wojton przedłożyła do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w formie manuskryptu rozprawę doktorską pt. „Niekonwencjonalna miozyna VI jako potencjalny regulator metabolizmu mięśni szkieletowych”. Promotorem rozprawy jest pani prof. dr hab. Maria Jolanta Rędownicz, zaś funkcję promotora pomocniczego pełniła pani dr Liliia Lehka. Jak wynika z dokumentacji postępowanie toczy się w oparciu o przepisy Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.) Badania będące przedmiotem rozprawy zostały przeprowadzone przy wsparciu finansowym dwóch projektów badawczych: projektu Opus 2017 /27/B/NZ3/01984 (kierownik: prof. dr hab. Maria Jolanta Rędownicz) i projektu Sonata 2022/47/D/NZ3/02737 (kierownik: dr Liliia Lehka).

Tytuł pracy w brzmieniu „Niekonwencjonalna miozyna VI jako potencjalny regulator metabolizmu mięśni szkieletowych” odpowiada jednoznacznie na treści zawarte w pracy i oddaje ich istotę.

Rozprawa doktorska mgr Dominiki Wojton jest klasyczną, eksperymentalną pracą, której głównym celem było określenie potencjalnej roli niekonwencjonalnej miozyny VI w metabolizmie mięśni szkieletowych. Układ rozprawy jest standardowy tj. z podziałem na typowe dla prac doktorskich rozdziały i podrozdziały. Zawiera także dobrze opracowane



streszczenie zarówno w języku polskim jak i angielskim oraz spis piśmiennictwa. Nietypowy dla rozpraw jest spis publikacji własnych, zamieszczony na końcu pracy. Spis ten wskazuje na znaczący dorobek pani Wojton, która jest współautorką 4 opublikowanych artykułów i jednego (w recenzji), w którym jest pierwszym autorką. Nie mam zastrzeżeń do układu rozprawy i należy stwierdzić, że sam manuskrypt jest przygotowany starannie, zgodnie z kanonami przygotowania rozpraw naukowych. Tekst rozprawy obejmuje 122 strony co jest standardową objętością eksperymentalnych rozpraw doktorskich.

Wprowadzenie do rozprawy „**Wstęp**” obejmujące 29 stron, jest starannie przygotowane i wskazuje na znaczącą wiedzę doktorantki w zakresie: budowy i metabolizmu mięśni szkieletowych, budowy i funkcji miozyn konwencjonalnych oraz niekonwencjonalnych. Treść tych rozdziałów ma związek z tematyką opisywanych w zasadniczej części rozprawy doświadczeń i dlatego uważam, że jest właściwie dobrana i opracowana oraz poparta poprawnym przeglądem literatury. Ta część pracy zawiera 12 starannie przygotowanych rycin, które ilustrują omawiane zagadnienia i procesy.

Uwagi:

W odniesieniu do tej części rozprawy chcę zwrócić uwagę na drobne uchybienia nazewnicze. Na str. 17 i 18 użyte są określenia włókien „wolno- i szybkokurczliwych”, a powinno używać się „szybko kurczące się”, „wolno kurczące się”. Niefortunne jest także określenie „kurczą się powoli i są wytrzymałe na zmęczenie”, gdzie prawidłowo powinno pisać się o krótkim czasie skurczu i odporności na zmęczenie. Natomiast w tabeli 1.1 na stronie 18 błędnie zastosowano nazewnictwo jednostek motorycznych, które mają swoją odrębną klasyfikację. Np. nazwa: „typ jednostki motoryczne: wolnokurczliwy, oksydacyjny” jest wyrażeniem bardzo nieprecyzyjnym. Prawdą jest, że włókna typu I są wolno kurczące się i posiadają metabolizm tlenowy, ale wchodzi w skład jednostek ruchowych wolnych (S). Natomiast włókna typu IIa są włóknami szybko kurczącymi się o charakterze tlenowo-glikolitycznym i wchodzi w skład jednostek szybkich (FR), i nie prowadzą wyłącznie oksydacyjnych przemian metabolicznych jak podaje doktorantka w tabeli 1.1. i na str. 73. Wydaje się to zbyt dużym uproszczeniem. Wiadomym jest, że różnica pomiędzy metabolizmem włókien typu I czy typu II dotyczy procentowego udziału różnych szlaków metabolicznych w wytwarzaniu ATP i nawet najszybsze włókna mięśniowe (np. IIx u ludzi) zawierają mitochondria i wytwarzają ATP w procesie fosforylacji oksydacyjnej. Z drugiej

strony potwierdzam, że klasyfikacja typów jednostek ruchowych w mięśniach mysich nie jest oczywista. Proszę Autorkę rozprawy o wyjaśnienie tej kwestii podczas obrony.

Na stronie 33 i 34 w opisie miozyn niekonwencjonalnych doktorantka pisze „*Łańcuchy ciężkie miozyn niekonwencjonalnych posiadają charakterystyczną dla wszystkich miozyn budowę strukturalną opisaną w podrozdziale 1.3.1*”, który jest de facto rozdziałem opisującym miozyny konwencjonalne.

**Założenia i cele pracy** na stronie 44 są przedstawione w sposób jasny i precyzyjny, dotyczą:

1. Analizy ekspresji Myo6 w mięśniach szkieletowych na różnych etapach rozwoju myszy.
2. Określenia wpływu braku MVI na morfologię włókien mięśniowych.
3. Zbadania wpływu braku MVI na zawartość izoform łańcuchów ciężkich miozyn mięśniowych w mięśniach szkieletowych.
4. Oceny wpływu braku MVI na funkcje mitochondriów w komórkach miogennych oraz mięśniach szkieletowych.
5. Analizy aktywności szlaków zaangażowanych w metabolizm mięśni szkieletowych, w tym w proces lipolizy.

**Material i metody.** Ten rozdział pracy zawiera opis procedur eksperymentalnych i zajmuje 20 stron, co odpowiada bardzo szerokiemu spektrum stosowanych (około 20) różnych metod i technik badawczych. Wskazuje to na ogromny warsztat naukowy pani Wojton i spore doświadczenie laboratoryjne. Doktorantka uczciwie zaznacza, że część z wykonywanych technik badawczych jest efektem współpracy innych eksperymentatorów z zespołu badawczego, w którym realizowała swój projekt, co w niczym nie umniejsza zasług doktorantki, a jest standardowym postępowaniem w zespołach laboratoryjnych, umożliwiającym pełniejsze wykorzystanie potencjału naukowego.

Uwagi:

Uważam, że stopień szczegółowości opisu metod jest wyczerpujący i wystarczający w sensie umożliwienia powtórzenia badań przez inny zespół. Język, jakim posługuje się doktorantka, jest poprawny i typowy dla tekstów naukowych. Zawarte w tym rozdziale ryciny (n=2) i tabele (n=9) są ułatwieniem w zrozumieniu opisywanych czynności. Warunki hodowli



oraz procedury uśmiercania zwierząt były zgodne z wytycznymi Ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz. U. 2015 poz. 266). Dalsze badania prowadzone na pobranych tkankach nie wymagały akceptacji lokalnej komisji etycznej ds. doświadczeń na zwierzętach. Do tej części rozprawy nie mam większych uwag krytycznych. Uchybieniem jest natomiast brak liczby wykorzystanych zwierząt w przeprowadzonych badaniach. Wiadomo jedynie, że wykorzystano nowonarodzone oraz 3 i 12 miesięczne samce myszy *Snell's waltzer* niesyntetyzujące funkcjonalnej miozyny VI oraz zwierzęta kontrolne typu WT. Niejasne jest także, który dokładnie mięsień był pobierany do hodowli mioblastów, gdyż pisząc mięsień brzuchaty łydki zastosowano skrót GM i nazwę *gastrocnemius* co w domyśle oznacza cały mięsień, czyli zarówno głowę boczną (MG) i przyśrodkową (LG). Natomiast skrót GM może domyślnie oznaczać zarówno *musculus gastrocnemius* jak i *gastrocnemius medialis* (brzuchaty przyśrodkowy).

**Wyniki.** Uzyskane wyniki przedstawiono na str. 65-94 na 34 rycinach, które zostały przygotowane bardzo starannie. Wyniki badań są opisane w sposób standardowy dla rozpraw doktorskich i cechują się znacznie większym stopniem szczegółowości, niż w publikacjach zawartych w czasopismach naukowych. Zgodnie z charakterem metod, opis wyników podzielony jest na kilka zasadniczych części, obejmujących kolejno ocenę wpływu braku miozyny VI na morfologię mięśni szkieletowych kończyny tylnej, na funkcjonowanie mitochondriów oraz sygnalizację komórkową w mięśniach szkieletowych oraz na metabolizm lipidów w badanych mięśniach.

Uwagi:

W tym rozdziale nie do końca jest dla mnie jasne używanie określeń „wielkość włókien” zamiast średnica włókien (str. 67) oraz „włókien małych” zamiast włókien cieńszych (str 68). Wydaje się to być pewnym kolokwializmem. Natomiast z uznaniem należy docenić ogromną ilość wyników badań, ich bardzo szczegółowy stopień opracowania, czytelne ryciny, prawidłowo dobraną statystykę, komplementarność dającą spory obraz zmian jakie następują w mięśniach szkieletowych w sytuacji braku miozyny VI.

**Dyskusja.** Do tekstu dyskusji rozprawy także nie mam większych zastrzeżeń. Sposób prowadzenia dyskusji i wnioskowania jest logiczny i poparty źródłowymi danymi ze

światowego piśmiennictwa z ostatnich lat (177 cytowanych prac). Zabrakło mi jedynie omówienia kwestii obserwowanych zmian głównie w mięśniach z przewagą włókien wolnych, co przyczyniłoby się do zwiększenia stopnia spójności doktoratu. Ważną dla mnie kwestią podjętą przez doktorantkę jest spostrzeżenie, że obserwowane i opisane zmiany w metabolizmie oraz strukturze mięśni szkieletowych przy braku miozyny VI mogą mieć istotny wpływ na jakość pracy mięśnia, a zatem na elektrofizjologiczne cechy skurczu jednostek ruchowych (badanych *in vivo*). Pisząc o potrzebie kontynuowania badań w celu poznania szczegółowych mechanizmów stojących za obserwowanymi zmianami w mięśniach szkieletowych warto wskazać na celowość wzmocnienia badań o aspekty funkcjonalnego znaczenia spowodowanego brakiem MVI.

### **Wnioski końcowe**

Głównym osiągnięciem doktorantki jest przedstawienie, że niekonwencjonalna miozyna VI odgrywa ważną rolę w metabolizmie mięśni szkieletowych. Są to nowe odkrycia, które wskazują, że MVI zaangażowana jest m.in. w proces oddychania komórkowego, produkcję ATP, lipolizę oraz szlaki sygnałowe.

Z obowiązku recenzenta chciałabym również, w odniesieniu do całej rozprawy, zwrócić uwagę na błędy interpunkcyjne w postaci umieszczania przecinka po słowie „ponadto” stosowanym na początku zdania, co w języku polskim jest błędem wynikającym bardzo często z wpływu języka angielskiego (nauczani jesteśmy stawiać przecinki po analogicznych wyrażeniach np. „moreover”).

Niezależnie od kilku powyższych uwag, do których doktorantka będzie się mogła odnieść podczas publicznej obrony, stwierdzam, że rozprawa jest przygotowana profesjonalnie a pani mgr Dominika Wojton posiada dużą wiedzę ogólną w dyscyplinie nauki biologicznej i umiejętność prowadzenia badań naukowych z zastosowaniem wielu zaawansowanych metod badawczych.

### **Podsumowanie**

Konkludując ostatecznie recenzję rozprawy doktorskiej pani mgr Dominiki Wojton uważam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

Stwierdzenie to wynika z wysokiego poziomu naukowego prowadzonych badań, ich znaczącego stopnia nowatorstwa, wykorzystania w badaniach szeregu komplementarnych technik laboratoryjnych i bardzo wysokiego poziomu samej rozprawy. W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej o dopuszczenie mgr Dominiki Wojton do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Mając na uwadze wysoką wartość merytoryczną pracy, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Poznań, 27. 03. 2025

*Hanna Drzymala-Celichowska*





Warszawa, 18.03.2025

**Recenzja pracy doktorskiej zatytułowanej:**

***„Niekonwencjonalna miozyna VI jako potencjalny regulator metabolizmu mięśni szkieletowych”***

**autorstwa mgr Dominiki Anny Wojton.**

Praca doktorska zrealizowana została w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, a jej promotorem była prof. dr hab. Maria Jolanta Rędownicz, promotorem pomocniczym - dr Liliia Lehka.

Miozyna VI (MVI) to unikalne białko motoryczne, które pełni ważne funkcje w komórkach mięśniowych, w tym w procesie mitofagii, oraz jest obecne w mięśniach szkieletowych, gdzie wpływa na organizację cytoszkieletu i różnicowanie mioblastów. Brak MVI w mięśniach prowadzi do zaburzeń strukturalnych oraz przerostu mięśni, co sugeruje jej rolę w metabolizmie mięśni szkieletowych. Jednakże jego dokładna rola w regulacji metabolizmu mięśni szkieletowych pozostawała wciąż niejasna, wskazując na potrzebę przeprowadzenia dalszych badań. Celem pracy mgr Dominiki Anny Wojton stało się zatem określenie roli miozyny VI w metabolizmie mięśni szkieletowych.

Badania wchodzące w skład rozprawy doktorskiej mgr Dominiki Wojton finansowane były przez dwa projekty (Opus, 2017/27/B/NZ3/01984 oraz Sonata, 2022/47/D/NZ3/02737), a ich rezultaty weszły w skład 4 eksperymentalnych publikacji naukowych. Praca, zawarta na 122 stronach maszynopisu, została zaprezentowana w formie klasycznej rozprawy, podzielonej rozdziały typowe dla eksperymentalnych prac doktorskich. Rozdział Wstęp stanowi przekrojowe i czytelne wprowadzenie w zagadnienia, będące tematem pracy, a cel pracy został sformułowany jasno, dobrze uzasadniając podjęte badania na tle istniejącego stanu wiedzy. Doktorantka zastosowała szeroki zestaw metod badawczych, adekwatnych do celu pracy, opisując je w rozdziale Materiały i Metody, a rezultaty badań poddane zostały niezbędnym analizom statystycznym i przedstawione w rozdziale Wyniki. Zarówno wstęp zawierający tło prowadzonych badań, jak i dyskusja uzyskanych wyników zostały opisane w odniesieniu zarówno do starszych prac, jak i najnowszej literatury dotyczącej opisywanych zagadnień, której wykaz zebrany jest w ostatnim rozdziale rozprawy. Doktorantka wykorzystała blisko 180 pozycji bibliograficznych, których tematyka ściśle wiąże się z tematyką przedstawionej do recenzji pracy, prawidłowo je cytując. Dodatkowo wyróżniony został rozdział związany z listą publikacji własnych autorki. Realizacja projektu doprowadziła do powstania

wielowymiarowej rozprawy doktorskiej dostarczającej po raz pierwszy danych wskazujących, że MVI jest zaangażowana w utrzymanie morfologii włókien mięśniowych oraz regulację metabolizmu mięśni szkieletowych.

*Wstęp* do rozprawy doktorskiej w bardzo przystępny sposób wprowadza czytelnika w tematykę związaną z jednej strony z budową i funkcjonowaniem mięśni szkieletowych, ze szczególnym uwzględnieniem metabolizmu energetycznego mięśni, z drugiej w kwestie związane z rolą miozyny VI w ich funkcjonowaniu. Rozdział ten zawiera informacje istotne dla zrozumienia tematyki pracy i świadczy o rozległej wiedzy Doktorantki. Na uwagę zasługują czytelne, wyczerpująco podpisane i prawidłowo cytowane w tekście schematy, w sposób znaczący ułatwiające zrozumienie omawianych zagadnień.

Rozdział *Materiały i Metody* obszernie prezentuje wykorzystane odczynniki i szerokie spektrum zastosowanych technik. Sposób zaplanowania doświadczeń świadczy o wysokich umiejętnościach autorki w prowadzeniu pracy naukowej, umożliwiając precyzyjne i rzetelne przeprowadzenie eksperymentów, co jest kluczowe w uzyskaniu wiarygodnych wyników badawczych. Opis materiałów i metod jest bardzo szczegółowy, a uwzględnienie zarówno standardowych, jak i bardziej zaawansowanych metod badawczych pozwala na kompleksową analizę problemu badawczego. Wykorzystane metody są dobrze zaplanowane i przeprowadzone zgodnie z uznanymi standardami wykorzystywanymi w hodowli komórek *in vitro*, badaniach białek, biologii molekularnej, czy w badaniach nad metabolizmem komórkowym. Podobnie, zastosowane metody immuno- i histochemiczne zostały zaplanowane i przeprowadzone zgodnie ze standardami i najlepszymi praktykami. Drobne zastrzeżenia mogą dotyczyć jedynie braku informacji związanej z oceną kontaminacji mykoplazmą wykorzystanych do badań linii komórkowych. Standardowa kontrola czystości biologicznej powinna być zawsze uwzględniona ze względu na wysoką podatność linii komórkowych na kontaminację. Nie jest także jasne, o ile zredukowany został poziom MVI w porównaniu z komórkami kontrolnymi w przypadku stabilnego knockdown genu MVI oraz czy określano jego aktualny poziom w komórkach. Wygenerowanie linii komórkowej z knockdownem MVI przy użyciu systemu wektorowego pSilencer 2.1-U6 hygro jest dobrze ugruntowaną metodą. Zastosowanie siRNA specyficznego dla mRNA MVI pozwala na precyzyjną modulację ekspresji docelowego genu. Jednak stabilne linie komórkowe mogą wykazywać różne poziomy knockdownu w zależności od pasażu komórek. Regularna weryfikacja poziomu ekspresji MVI (Western blot lub qPCR) powinna być zatem uwzględniona.

Rozdział *Wyniki* zawiera uporządkowany i konsekwentny w swoim przebiegu opis przeprowadzonych analiz oraz uzyskanych rezultatów bogato ilustrowany czytelnymi wykresami i bardzo dobrej jakości zdjęciami. Uzyskane wyniki badań podzielone zostały na trzy części. W części pierwszej przedstawiono wyniki dotyczące wpływu braku miozyny VI na morfologię mięśni szkieletowych kończyny tylnej. Opisano analizę ekspresji genu *Myo6* oraz poziomu białka MVI w mięśniach szkieletowych, a także przeprowadzono badania liczby i wielkości włókien mięśniowych, zawartości

kolagenu oraz izoform ciężkich łańcuchów miozyny we włóknach mięśniowych. W części drugiej skupiono się na ocenie wpływu braku miozyny VI na funkcjonowanie mitochondriów oraz sygnalizację komórkową w mięśniach szkieletowych i komórkach mięśniowych. Przeanalizowano kolokalizację MVI z markerem mitochondriów TOM20, oddychanie komórkowe z wykorzystaniem urządzenia Seahorse, poziom ATP, wzrost mioblastów w pożywce galaktozowej oraz aktywność szlaków sygnalizacyjnych AMPK/mTOR i cAMP/PKA. Dodatkowo zbadano poziom kinazy kreatynowej w mięśniach szkieletowych. W części trzeciej opisano wpływ braku miozyny VI na metabolizm lipidów w mięśniach szkieletowych, co obejmowało szczegółową analizę zmian w metabolizmie lipidów w badanych próbkach.

Wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr Dominiki Wojton zostały jasno opisane, co umożliwia ich pełne zrozumienie i ocenę. Każdy etap badań jest szczegółowo opisany, a uzyskane rezultaty badań są przedstawione w kontekście wcześniejszych hipotez i założeń. Kluczowe obserwacje są jasno sformułowane, przedstawione z wyraźnym powiązaniem wniosków z przedstawionymi danymi i poparte odniesieniami do rycin.

Zwieńczeniem rozprawy jest, podzielona na kilka podrozdziałów adekwatnych do sposobu prezentacji wyników, *Dyskusja*. W rozdziale tym uzyskane rezultaty badań zostały podsumowane i zestawione z istniejącą literaturą dotyczącą problematyki badań, w sposób świadczący o dojrzałości naukowej Doktorantki. Dyskusja łączy obserwacje molekularne z fenotypowymi zmianami w mięśniach szkieletowych, takimi jak np. potencjalne zmniejszenie rozmiaru włókien mięśniowych. Pokazuje to, że autorka rozumie biologiczne konsekwencje swoich wyników. Rozdział ten jest bardzo dobrze skonstruowany i dostarcza cennych informacji na temat omawianych zagadnień. Omówienie pewnych aspektów pozostawia jednak niewielki niedosyt. W szczególności, więcej uwagi mogłoby zostać poświęcone znaczeniu funkcjonalnemu obserwowanych zmian. Dyskusja mogłaby na przykład szerzej omówić, jakie znaczenie biologiczne ma np. spadek poziomu MVI obserwowany wraz z wiekiem i czy zmniejszenie ekspresji Myo6 może wpływać na zdolności regeneracyjne mięśni lub ich funkcję w starszym wieku. Warto byłoby także szerzej omówić, dlaczego mięśnie typu wolnego (mięsień Soleus) są bardziej podatne na zmiany metaboliczne przy braku MVI (np. przy różnicach w aktywności AMPK/mTOR) w kontekście specyficznych funkcji tych mięśni. Dyskusja nie porusza również kwestii, czy inne białka (np. inne miozyny niekonwencjonalne) mogą częściowo kompensować brak MVI w mięśniach szkieletowych. Wspomnienie o NM1B (izoforma miozyny, która odgrywa istotną rolę w procesach transportu komórkowego oraz w organizacji cytoszkieletu) w kontekście białka S6 jest interesujące i temat ten mógłby zostać bardziej rozwinięty. Pomimo tych drobnych uwag, praca doktorska wykazuje wysoki poziom merytoryczny oraz staranność w badaniach, co czyni tę pracę wartościowym wkładem w rozwój badań, poszerzając wiedzę na temat roli MVI w utrzymaniu homeostazy metabolicznej i strukturalnej mięśni szkieletowych. Najważniejsze wnioski wynikające z przeprowadzonych analiz znaleźć można w rozdziale *Posumowanie i wnioski*.



Podsumowując, rozprawa doktorska **mgr Dominiki Wojton** w pełni spełnia wymagania stawiane pracom doktorskich, zarówno pod względem merytorycznym, jak i metodologicznym. Autorka wykazuje wysoką samodzielność badawczą, a przeprowadzone badania są rzetelnie zaprezentowane i dobrze uzasadnione teoretycznie. Autorka wykazuje także doskonałą znajomość literatury przedmiotu, co pozwala na pełne osadzenie pracy w kontekście dotychczasowych badań. Praca charakteryzuje się oryginalnością, prezentując nowatorskie wyniki, które stanowią istotny wkład w poszerzenie wiedzy na temat roli miozyny VI (MVI) w funkcjonowaniu mięśni szkieletowych. Dlatego stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny **rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz.742 z późn. zm.)** i wnioskuje do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej o dopuszczenie mgr Dominiki Wojton do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora, wnosząc równocześnie o **wyróżnienie pracy**.

