



Białowieża, 09.12.2019

## Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Dudek pt.

„Geny głównego układu zgodności tkankowej (MHC): charakterystyka i  
introgresja u traszek z grupy *Lissotriton vulgaris*”

### Uwagi formalne

Rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Dudek została wykonana w Instytucie Nauk o Środowisku na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pod opieką promotorską prof. dr. hab. Wiesława Babika i dr. Piotra Zielińskiego.

Rozprawa jest napisana w języku polskim i ma formę manuskryptu o objętości 103 numerowanych stron. Zachowano w niej klasyczny układ: streszczenie, wstęp, cele pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja oraz literatura. Zawiera ona również streszczenie w języku angielskim.

### Uwagi ogólne - hipotezy

Oceniana rozprawa doktorska stanowi merytorycznie spójne opracowanie. Tematem rozprawy było zbadanie zmienności genów MHC klasy I i II u gatunków traszek z kompleksu *Lissotriton vulgaris* oraz oszacowanie poziomu introgresji tych genów pomiędzy populacjami z różnych grup geograficznych oraz w strefach mieszańcowych, jakie traszka karpacka (*L. montandoni*) tworzy z dwiema liniami traszki zwyczajnej (*L. vulgaris*) po obu stronach Karpat.

Doktorantka założyła, że w populacjach traszek należących do różnych grup geograficznych, geny MHC klasy I ulegają łatwiejszej introgresji niż inne losowo wybrane geny. Zatem postawiła hipotezę, że w przypadku braku introgresji, zróżnicowanie losowo wybranych innych genów powinno być najmniejsze między grupami traszek najbliższej spokrewnionymi, czyli powinno odzwierciedlać filogenezę badanych grup. Natomiast w przypadku introgresji

genów MHC klasy I, zróżnicowanie powinno być najmniejsze między populacjami traszek bliższymi geograficznie, czyli tam gdzie przepływ genów jest największy, a nie między populacjami z grup najbliżej spokrewnionych. Doktorantka słusznie założyła, że takie podejście metodyczne pozwoli jej na pośrednie wnioskowanie o tempie introgresji genów MHC klasy I w stosunku do średniej ogólnogenomowej w badanych populacjach traszek.

Doktorantka założyła również, że w dwóch strefach mieszańcowych, jakie traszka karpacka tworzy z dwiema liniami traszki zwyczajnej po obu stronach Karpat, dochodzi do introgresji genów MHC klasy I i II. Zatem oczekiwała, że jeśli introgresja jest tam bardzo silna, to wewnątrzgatunkowe zróżnicowanie genów MHC między znacznie oddalonymi transektami będzie większe niż międzygatunkowe zróżnicowanie wewnątrz tego samego transektu.

Doktorantka wykorzystwała liczne próby z wielu populacji traszek zaliczanych do kilku gatunków przyporządkowanych do trzech grup geograficznych (najliczniejszy materiał pochodził ze stref mieszańcowych od traszki karpackiej i zwyczajnej). Doktorantka wykonała liczne analizy laboratoryjne wykorzystując szeroki wachlarz metod badawczych oraz opracowała dane genetyczne stosując różnorodne narzędzia/programy statystyczne.

### **Najważniejsze wyniki**

Doktorantka przeprowadziła ambitne wieloaspektowe badania i uzyskała cenne wyniki naukowe:

- stwierdziła bardzo dużą zmienność w genach MHC klasy I i II u traszek z kompleksu *L. vulgaris* (1383 alleli MHC klasy I i 271 klasy II). Wykazała wysoką zmienność niesynonimową w miejscach wiążących antygen oraz wykryła silny sygnał doboru pozytywnego. Na podstawie analizy ekspresji na poziomie transkrypcji, zakwalifikowała allele MHC klasy I do kategorii o wysokiej albo niskiej ekspresji. Ponadto zidentyfikowała allele nieklasyczne/pseudogeny na podstawie analizy ekspresji i ich grupowania się na drzewie filogenetycznym;

- skonstruowała drzewa filogenetyczne sekwencji kodujących MHC badanych gatunków traszek oraz kilku innych gatunków z rzędu płazów ogoniastych i stwierdziła, że linie alleliczne każdego z tych gatunków wyewoluowały prawdopodobnie już po podziale rodzin, z których pochodzą;

- na podstawie analizy sekwencji egzonu 2 MHC klasy I i II u rodziców i potomstwa z krzyżówek traszki zwyczajnej i karpackiej, Doktorantka określiła po 8 haplotypów dla obu

klas tych genów, które zawierały odpowiednio 5 - 9 alleli oraz 1 - 3 alleli. Ponadto uznała, że geny MHC klasy I i II są ze sobą silnie sprzężone, bowiem nie stwierdzono rekombinantów wśród 112 osobników pokolenia F2;

- wykazała silniejszą introgresję genów MHC klasy I w porównaniu do 150 losowo wybranych genów w dużej skali przestrzennej (analizowała 35 populacji traszek z 3 grup geograficznych). Dowiodła bowiem, że zróżnicowanie losowo wybranych genów było najmniejsze pomiędzy grupami traszek najbliższej spokrewnionymi, czyli tak jak oczekiwano na podstawie filogenezy tych grup. Natomiast zróżnicowanie genów MHC było najmniejsze między grupami traszek dalej spokrewnionymi, ale bliższymi geograficznie, czyli tam gdzie występował przepływ genów. Udokumentowała również wyraźną introgresję genów MHC klasy I i II między gatunkami na transektach w dwóch strefach mieszańcowych traszki karpackiej i zwyczajnej.

Doktorantka bardzo wnikliwie zinterpretowała wyniki rozprawy. W dyskusji zaprezentowała rozległą wiedzę w podejmowanym temacie i trafnie przedstawiła uzyskane wyniki w świetle dostępnej wiedzy. Jej argumentacja i wnioskowanie nie budzą zastrzeżeń.

### **Uwagi krytyczne**

Wykonanie tak ambitnej pracy doktorskiej było możliwe w zespole kierowanym przez prof. Wiesława Babikę, który od wielu lat prowadzi badania nad zróżnicowaniem genów MHC i ewolucją traszek na najwyższym poziomie naukowym. Z tego doświadczenia oraz ze zgromadzonego wcześniej materiału badawczego mogła korzystać Doktorantka w trakcie przygotowywania swojej rozprawy, co zapewne było znaczącym wsparciem. Jednakże, istotnym uchybieniem jest brak jasnego stwierdzenia w jakim zakresie Doktorantka korzystała z opublikowanych wcześniej wyników.

Część wyników zaprezentowanych w rozprawie była już wcześniej opublikowana. Takie łączenie danych/wyników publikowanych z niepublikowanymi jest dopuszczalne w rozprawie doktorskiej, ale w takim przypadku należy zawsze podawać źródło, z którego pochodzą dane, nawet jeśli jest to publikacja własna. Doktorantka w swojej rozprawie wykorzystwała część wyników zamieszczonych w artykule opublikowanym w 2018 r., którego jest współautorem: *Fijarczyk A, Dudek K, Niedzicka M, Babik W. 2018. Balancing selection and introgression of newt immuneresponse genes. Proc. R. Soc. B 285: 20180819.* Co prawda, w tekście rozprawy, szczególnie w dyskusji, artykuł ten jest odpowiednio cytowany, a także w podziękowaniach znalazła się informacja o wykorzystaniu materiałów

publikowanych. Jednakże moim zdaniem, Doktorantka powinna była podać także źródło w nagłówkach tabel i podpisach rycin pochodzących z tej publikacji. Dotyczy to także rycin i tabel zmodyfikowanych.

Pod względem edytorskim manuskrypt ocenianej rozprawy doktorskiej jest bardzo solidnie opracowany. Zauważyłem jedynie drobne niedoskonałości:

- na str. 46 pojawiły się dwa błędy o nieprawidłowych odesłaniach do odpowiedniego źródła literatury;
- na str. 81, w podpisie Rysunku 33 brak objaśnienia co oznaczają poszczególne kolory na rysunku. Zapewne kolory te są zgodne z kolorami na innych rysunkach, ale brak takiej informacji;
- na niektórych rysunkach kolory ciemnozielony i jasnozielony są słabo rozróżnialne, co utrudnia czytanie.

### **Podsumowanie**

Nie ulega wątpliwości, że pomimo kilku uwag krytycznych, oceniana rozprawa doktorska zasługuje na wysoką ocenę, ze względu na jej nowatorskość i cenne wyniki naukowe. Poszerza ona istotnie wiedzę o zmienności i introgresji genów MHC klasy I i II u gatunków traszek należących do kompleksu *Lissotritron vulgaris*. O ważności osiągnięcia naukowego tej rozprawy doktorskiej świadczy także fakt, że wyniki dotyczące introgresji genów MHC w strefach hybrydyzacji traszek, zostały ostatnio opublikowane w renomowanym czasopiśmie *Molecular Ecology*. Doktorantka jest pierwszym autorem tej publikacji (Dudek K. i in. 2019. *Molecular Ecology* 28: 4798–4810).

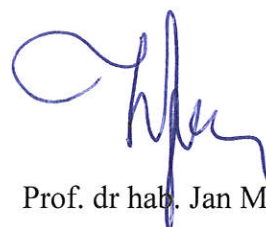
Trzeba docenić Doktorantkę za to, że podjęła się realizacji trudnego tematu badawczego i dobrze poradziła sobie z tym zadaniem. Doktorantka dobrze opanowała warsztat badawczy, zarówno techniki laboratoryjne jak i nowoczesne metody analizy danych genetycznych. Wykazała się również znajomością analizy danych z zastosowaniem różnych metod statystycznych. Metodyka odnosząca się do poszczególnych części badań (analiz) została bardzo jasno i szczegółowo opisana. Należy docenić szczególnie umiejętności Doktorantki w zakresie identyfikacji alleli nieklasycznych czy pseudogenów MHC u traszek na podstawie analizy ekspresji alleli i ich grupowania się na drzewie filogenetycznym. Bowiem zagadnienie to nastęrcza badaczom wiele trudności. W dyskusji Doktorantka zaprezentowała bardzo dobrą znajomość zagadnień z zakresu genetyki populacyjnej i biologii ewolucyjnej, a także umiejętnie przedstawiła swoje wyniki w świetle dostępnej wiedzy.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Dudek stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz wykazuje bardzo dobrą ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki w zakresie biologii oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

### **Wniosek końcowy**

Konkludując stwierdzam, że rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Dudek pt. „Geny głównego układu zgodności tkankowej (MHC): charakterystyka i introgresja u traszek z grupy *Lissotriton vulgaris*” spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595; z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, z 2010 r. Nr 96, poz. 620, Nr 182, poz. 1228, z 2011 r. Nr 84, poz. 455).

Zwracam się zatem do Rady Naukowej Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Dudek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Jan Marek Wójcik