

Poznań, 26.09.2015 r.

Dr hab. Iwona Morkunas, prof. nadzw.  
Katedra Fizjologii Roślin  
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wołyńska 35  
60-637 Poznań

**Ocena pracy doktorskiej mgr Katarzyny Jasienieckiej-Gazarkiewicz  
pt. „Charakterystyka specyficzności substratowej oraz określenie funkcji  
fizjologicznych wybranych acylotransferaz acylo-CoA:lizofosfolipid”**

Praca doktorska mgr Katarzyny Jasienieckiej-Gazarkiewicz zrealizowana została w Katedrze Biotechnologii, Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, pod kierunkiem Prof. dr hab. Antoniego Banasia. Należy podkreślić, że mgr Katarzyna Jasieniecka-Gazarkiewicz była stypendystą w szóstej edycji projektu pt. „InnoDoktorant – stypendia dla doktorantów”, wspierającego naukowców przygotowujących prace doktorskie z dyscyplin i specjalności naukowych wymienionych jako preferowane do wsparcia w Regionalnej Strategii Innowacji dla Województwa Pomorskiego, współfinansowanej ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Fakt ten jest wyrazem uznania ze strony władz województwa Pomorskiego dla badań prowadzonych przez Doktorantkę pod kierunkiem prof. dr hab. Antoniego Banasia. Chciałabym w tym miejscu podkreślić także, że na dorobek naukowy Doktorantki składa się współautorstwo w 1 publikacji naukowej opublikowanej w *Journal of Biological Chemistry* i w 1 publikacji wysłanej do czasopisma *Lipids*, gdzie jest pierwszym autorem.

Praca doktorska jest opracowana zgodnie z wymogami obowiązującymi dla prac doświadczalnych w dziedzinie nauk biologicznych w zakresie biochemii; obejmuje bowiem w kolejności: *Wykaz skrótów stosowanych w pracy* (2 strony), *Streszczenie w języku polskim* (1,5 strony), *Wstęp i cel pracy* (1,5 strony), dość obszerny *Przegląd literatury* (33 strony), *Materiały* (14 stron), *Metody* (27 stron), *Wyniki* zawierające 40 tabel i 21 rycin (105 stron), *Dyskusja* (20 stron), *Wnioski* (2 strony), *Spis literatury* (obejmujący 163 cytowane artykuły literatury światowej, w zdecydowanej większości opublikowane w latach 1991-2008). Praca jest bardzo obszerna, w całości liczy 226 stron.

Problematyka rozprawy dotyczy słabo poznanych dotychczas enzymów zaangażowanych w biosyntezę lipidów, tj. acylotransferaz acylo-CoA:lizofosfolipid, w skrócie LPLAT-ów. Enzymy powyższe w reakcji do przodu (ang. *forward*) katalizują przenoszenie reszty acylowej z acylo-CoA na lizofosfolipid, czego efektem jest synteza odpowiedniego fosfolipidu. Z kolei w reakcji przebiegającej w odwrotnym kierunku (ang. *backward*) te enzymy katalizują przeniesienie reszty kwasów tłuszczowych z pozycji sn-2 fosfatydylocholiny do puli



cytoplazmatycznego acylo-CoA, wykorzystywanego do syntezy triacylogliceroli. Ta reakcja przyczynia się do wymiany kwasów tłuszczowych pomiędzy fosfolipidami (głównie fosfatydylocholina) a pulą kwasów tłuszczowych połączonych z koenzymem A. Reakcje katalizowane przez LPLAT-y są jednym z mechanizmów warunkujących remodelowanie składu kwasów tłuszczowych fosfolipidów. Chciałabym podkreślić znaczenie prowadzonych przez Doktorantkę badań, które koncentrowały się na syntezie lipidów, ważnego składnika błon komórkowych i lipidów zapasowych, a zatem związków niezwykle istotnych w komórkach roślinnych ze względu na funkcje sygnałowe, regulacyjne niektórych procesów biologicznych jak i wzrostu komórkowego. Z pewnością mechanizm remodelowania składu kwasów tłuszczowych jest niezwykle istotny w komórkach roślinnych, szczególnie podczas oddziaływania niekorzystnych czynników środowiskowych, ponieważ ma wpływ na płynność błon biologicznych.

Nadrzędnym celem pracy podjętym przez Doktorantkę było określenie specyficzności substratowej wybranych enzymów acylo-CoA:lizofosfolipid (LPLAT-ów) drożdżowych i roślinnych w reakcjach „do przodu” (ang. *forward*) i „do tyłu” (ang. *backward*) oraz wykazanie roli tych enzymów w transporcie nietypowych kwasów tłuszczowych (NKT) z miejsca syntezy do miejsca ich magazynowania. Ponadto jednym z celów dysertacji było także określenie funkcji fizjologicznych wybranych LPLAT-ów, poprzez wyłączanie lub nadekspresję wybranych genów kodujących badane enzymy i ocena wpływu tych manipulacji na skład i zawartość lipidów, tempo wzrostu, świeżą i suchą masę oraz morfologię mutantów drożdży piekarniczych (*Saccharomyces cerevisiae*) i rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*). Cele pracy zostały przez Doktorantkę jasno sformułowane na stronie 13 i 14 rozprawy. Temat i nadrzędny cel ocenianej pracy doktorskiej mieszczą się, w moim przekonaniu, w bardzo ważnym kierunku badawczym w dziedzinie współczesnej biologii molekularnej roślin. Mogę też stwierdzić, że temat pracy doktorskiej mgr Katarzyny Jasienieckiej-Gazarkiewicz jest jasno sformułowany. Poza tym postawione przez Doktorantkę cele są interesujące, biorąc pod uwagę fakt, że funkcja fizjologiczna acylotransferaz acylo-CoA:lizofosfolipid jest słabo poznana a o ich znaczeniu dla organizmów wnioskuje się na podstawie katalizowanych przez te enzymy reakcji biochemicznych w warunkach *in vitro*, w których wykorzystuje się frakcje mikrosomalne izolowane z mutantów *S. cerevisiae* czy *A. thaliana*. W tym miejscu chciałabym zaznaczyć, że podjęte przez Doktorantkę badania są w dużej mierze nowatorskie.

### **Ocena Przeglądu literatury**

Treści zawarte w *Przeglądzie literatury* są ściśle podporządkowane tematowi i celowi pracy doktorskiej. *Przegląd literatury* jest obszerny, obejmuje 33 strony tekstu, w tym 1 tabelę i 3 ryciny. Doktorantka dzieli ten rozdział na 3 główne podrozdziały, przeprowadzając czytelnika przez kwestie dotyczące funkcji i zastosowania lipidów, omówienie struktury, syntezy *de novo* kwasów tłuszczowych i glicerolipidów oraz scharakteryzowanie aktywności drożdżowych i roślinnych acylo-CoA:lizofosfolipidów, w tym ich fizjologicznej funkcji a także zastosowania acylotransferaz jako narzędzia w inżynierii genetycznej roślin oleistych. Wiele z prac cytowanych w *Przeglądzie literatury* to publikacje z ostatnich lat badań. Mam jedną uwagę tylko dotyczącą *Przeglądu literatury*, że ten rozdział mógłby być bardziej bogaty graficznie.

### **Materiał i Metody**

W tych rozdziałach zarówno materiał jak i stosowane metody zostały szczegółowo opisane przez Doktorantkę, która chciała dokładnie przedstawić cały, złożony warsztat, który został



zaangażowany w realizację celów pracy doktorskiej. Nie wnoszę żadnych zastrzeżeń dotyczących treści zawartych w tych dwóch obszernych rozdziałach pracy doktorskiej. Mgr Katarzyna Jasieniecka-Gazarkiewicz wykonała ogrom pracy z wykorzystaniem metod biologii molekularnej i biochemicznych. Mam drobne, następujące uwagi, które w żaden sposób nie umniejszają wartości tych rozdziałów:

- przy zastosowaniu przez Doktorantkę dwóch modeli badawczych i różnych wskaźników biochemiczno-molekularnych istotne byłoby umieszczenie schematów zaplanowanych eksperymentów, co sprawiłoby, że praca byłaby bardziej przejrzysta
- materiałem badawczym obok mutantów szczepu BY4742 drożdży piekarniczych (*S. cerevisiae*) były nasiona *A. thaliana*. Autorka rozprawy nie podała z jakiego źródła otrzymała nasiona i czym kierowała się wybierając do badań zarówno *S. cerevisiae* jak i *A. thaliana*. Poza tym niezrozumiałym wydaje się, dlaczego nasiona *A. thaliana* podczas sterylizacji powierzchniowej, w pierwszej kolejności traktowano poprzez zanurzenie w 0,1% roztworze podchlorynu sodu przez 15 min a następnie traktowano 70% etanolem (podrozdział 3.1., strona 61). Najczęściej kolejność jest odwrotna
- w tekście rozdziałów *Materiał* i *Metody* autorka często używa skrótów myślowych i żargonu laboratoryjnego.
- Doktorantka często pisze w tekście primery, w języku polskim powinno być startery (str. 63)
- na str. 64 Autorka podaje skład mieszaniny amplifikacyjnej, jednak mało czytelne jest czy podawane stężenia są końcowymi czy wyjściowymi. Poza tym ilości jakie podawano należy podawać precyzyjnie a nie używać określenia cytując „po około” (str. 63 i 66)
- nie ma rejonów w obszarze genów są tylko regiony, str. 64
- na str. 65 skład mieszaniny amplifikacyjnej, brak podanych stężeń
- na str. 67, gdzie Autorka opisuje izolację DNA genomowego z *A. thaliana* używa „Warstwę górną przenoszono”, powinno być „Fazę wodną przenoszono..”
- na str. 68 Autorka pisze cytując „Fazy wodne (górne), zawierające RNA przenoszono do nowych probówek typu Eppendorf i dodawano do nich izopropanol”, powinno być „Fazy wodne (górne), zawierające RNA przenoszono do nowych probówek typu Eppendorf i dodawano izopropanol w celu wytrącenia RNA”
- na str. 70 Autorka pisze „W celu wyizolowania insertu (gen kodujący *AtPEAT1*) z plazmidu pYES2 oraz w celu przecięcia pustego plazmidu Part7 przeprowadzono trawienie plazmidów przy pomocy enzymów *KpnI* i *XbaI*. Należałoby dopisać w zdaniu, że przeprowadzono trawienie plazmidów przy pomocy enzymów restrykcyjnych *KpnI* i *XbaI*. Na str. 71 w zdaniu brakuje także przy *NotI*, że jest to enzym restrykcyjny
- Na str. 70 ostatnie zdanie podrozdział 3.10.2 Doktorantka pisze cytując „... (otrzymane produkty rozdzielano na żelu agarozowym i określano ich rozmiar), powinno być (otrzymane produkty rozdzielano na żelu agarozowym i określano ich wielkość/długość)
- na str. 72 podrozdział 3.11.2 „W celu wyprowadzenia insertu genu kodującego *AtLPEAT2* do wektora pJET1.2 użyto gotowy zestaw CloneJET PCR Cloning Kit (Fermentas) zawierający wektor pJET1.2 w postaci linearnej.. „ powinno być „...w postaci liniowej..”
- na str. 73 tytuł podrozdziału 3.12. „Elektroforeza agarozowa”, powinno być „Elektroforeza w żelu agarozowym”
- na str. 74 skład prób, które nanoszono na żel, Autorka zamiast użyć „Loading Dye” powinna napisać obciążacz



Na str. 74 Autorka pisze cytując „reakcje nastawiano” powinno być „reakcję przygotowywano zachowując proporcje ...”

- na str. 75 podrozdział 3.17. Sekwencjonowanie Autorka pisze cytując „W celu ustalania sekwencji nukleotydów klonowanego DNA, plazmidy namnażano, izolowano oraz wysyłało do sekwencjonowania...”, powinno być dodane w tym zdaniu, że „W celu ustalania sekwencji nukleotydów klonowanego DNA, plazmidy namnażano, izolowano plazmidowe DNA oraz wysyłało do sekwencjonowania...”

- Na str. 77 Doktorantka pisze, cytując „Osad komórkowy zawieszano w małej ilości buforu do transformacji...”, powinno być: „Osad komórek bakteryjnych zawieszano w małej ilości buforu do transformacji”.

- Na str. 78 Doktorantka pisze, cytując „W celu odmłodzenia hodowli drożdże hodowane były przez 24 godziny...”, powinno być „W celu namnożenia drożdży hodowlę prowadzono przez 24 godziny”. Poza tym w tekście jest „W celu izolacji lipidów prowadzono hodowlę o objętości 50 ml”, powinno być: „W celu izolacji lipidów prowadzono hodowlę w objętości 50 ml”

- Na str. 81 Doktorantka pisze, cytując: „Ekstrakty chloroformowe przeznaczone do rozdziału odparowywano do sucha na łaźni piaskowej o temp. 35-40°C pod strumieniem azotu a następnie osady rozpuszczano 50 µl chloroformu”, powinno być: „Ekstrakty chloroformowe przeznaczone do rozdziału odparowywano do sucha w łaźni piaskowej o temp. 35-40°C pod strumieniem azotu a następnie osady rozpuszczano w 50 µl chloroformu”

Ponadto nie mam uwag, co do opisanych przez Doktorantkę metod badawczych stosowanych podczas realizacji pracy doktorskiej. Na podkreślenie zasługuje bardzo precyzyjny opis metod stosowanych w pracy (może czasami zbyt szczegółowy), co świadczy z pewnością o dokładności Doktorantki i dobrej znajomości tych metod.

## **Wyniki i Dyskusja**

Szczególnie rozdział *Wyniki i Dyskusja* zasługuje na pozytywną ocenę. Na ponad 105 stronach rozprawy Doktorantka szczegółowo przedstawia rezultaty wykonanych przez siebie analiz dotyczących:

- badania specyficzności substratowej acylotransferaz acylo-CoA:lizofosfolipid (LPLAT) z *S. cerevisiae* i *A. thaliana* w stosunku do akceptora kwasów tłuszczowych (lizofosfatydylocholiny, sn-1-18:1-LPC; lizofosfatydyloetanolaminy, sn-1-18:1-LPE; kwasu lizofosfatydowego, sn-1-18:1-LPA; lizofosfatydyloseryny, sn-1-18:1-LPS; lizofosfatydyloinozytolu, sn-1-18:1-LPI) i donora (kwasów tłuszczowych znakowanych węglem [<sup>14</sup>C] połączonych z koenzymem A) w warunkach *in vitro*, w reakcjach *forward*

- badania roli acylotransferaz acylo-CoA:lizofosfolipid (LPLAT) w remodelowaniu fosfolipidów (PC, fosfatydylocholiny; PE, fosfatydyloetanolaminy; PA, kwasu fosfatydowego) i w modyfikowaniu puli wolnego acylo-CoA (reakcje *backward*) oraz zbadanie udziału tych enzymów w remodelowaniu wolnej puli acylo-CoA

- wpływu wyłączenia genów kodujących acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfatydyloetanolaminy (*AtLPEAT*) na morfologię i rozwój roślin, na skład i zawartość lipidów w liściach i korzeniach *A. thaliana*, tj. na całkowitą zawartość acylolipidów i skład ich kwasów tłuszczowych, względną zawartość lipidów polarnych w linii kontrolnej, w liściach i korzeniach mutantów z wyłączonymi genami odpowiedzialnymi za aktywność LPEAT-ów, skład kwasów tłuszczowych wybranych lipidów występujących w liściach i korzeniach *A. thaliana* roślin nietransformowanych oraz w liściach i korzeniach mutantów z



wyłączonymi obydwu genami odpowiedzialnymi za aktywność LPEAT-ów, wpływ wyłączenia genów kodujących acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfatydyloetanoloaminy (*AtLPEAT*) na skład i zawartość lipidów w nasionach

- uzyskania i selekcji roślin z *A. thaliana* z komplementacją mutacji oraz roślin z nadekspresją genu *At1g80950* kodującego *AtLPEAT1* lub *At2g45670* kodującego *AtLPEAT2*

- wpływu nadekspresji genów kodujących acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfatydyloetanoloaminy (*AtLPEAT*) na morfologię i rozwój roślin *A. thaliana*, na skład i zawartość lipidów w liściach, korzeniach i nasionach *A. thaliana*

- analizy efektów fenotypowych komplementacji genów kodujących LPEAT-y w *A. thaliana*, wpływu komplementacji genetycznej genów kodujących LPEAT-y na zawartość lipidów w wybranych tkankach *A. thaliana*

Rozdział *Wyniki* jest napisany precyzyjnie i jasno (aczkolwiek niektóre fragmenty mogłyby być bardziej czytelne), co wskazuje, że Doktorantka posiada umiejętność planowania eksperymentów i potrafi właściwie analizować uzyskane wyniki. Z przeprowadzonych badań Autorka przedstawiła 9 wniosków ogólnych. Nie sposób w zwięzłej recenzji przedstawić i skomentować wszystkie uzyskane przez Doktorantkę wyniki. Przykładowo, Autorka w warunkach *in vitro* wykazała, że LPLAT-y kodowane przez odmienne geny różnią się między sobą specyficznością substratową w stosunku do donora i akceptora kwasów tłuszczowych, zatem mogą odgrywać różną rolę w regulacji składu kwasów tłuszczowych lipidów błonowych i zapasowych. Testy biochemiczne Doktorantka wykonywała wykorzystując frakcje mikrosomalne izolowane z mutantów drożdży *S. cerevisiae*, które stanowią jeden z podstawowych modelowych organizmów eukariotycznych współczesnej genetyki i biologii molekularnej. Otrzymane wyniki ujawniły, że LPLAT-y acylują poszczególne lizofosfolipidy z różną efektywnością. Preferencje badanych enzymów, co do akceptora kwasów tłuszczowych mogą się zmieniać w zależności od występowania testowanych enzymów w błonach. Ponadto niezwykle interesującym wynikiem było wykazanie, że wszystkie testowane acylotransferazy (*Ale1*, *Slc1*, *AtLPCAT2*, *AtLPEAT2*) były zdolne do remodelowania składu kwasów tłuszczowych fosfolipidów i puli acylo-CoA. Przeprowadzona przez Doktorantkę analiza fenotypowa mutantów *A. thaliana* umożliwiła określenie funkcji genów kodujących acylotransferazy acylo-CoA:lizofosfolipid w komórkach roślinnych. Dotychczas sekwencjonowanie genomów roślin modelowych umożliwiło poznanie sekwencji nukleotydowych wielu genów, jednak nadal brakuje danych na temat ich funkcji. Zatem otrzymane przez Doktorantkę wyniki są niezwykle istotne, ponieważ wniosą nowe informacje dla współczesnej biologii roślin. Dla przykładu wyłączenie w *A. thaliana* genów *At1g80950* (*AtLPEAT1*) lub *At2g45670* (*AtLPEAT2*) wywołuje silne efekty fenotypowe takie jak zahamowanie przyrostu korzeni, obniżenie świeżej masy liści i korzeni oraz zmniejszenie masy nasion. Z kolei nadekspresja tych genów wywołuje efekty odwrotne. Wyłączenie badanych genów wpływa także na zawartość acylo-lipidów i skład lipidów polarnych w tkankach *A. thaliana*.

Mam jedną uwagę dotyczącą sposobu przedstawienia niektórych wyników:

- na żelach przedstawiających produkty reakcji PCR (ryc. 6, 7, 9), na str. 130 i 132 opisy są mało czytelne, tj. nie zaznaczono ścieżki nr 1, która jest wymieniona w opisie rycin

W *Dyskusji* przedstawionej na 20 stronach Doktorantka umiejętnie dyskutuje uzyskane wyniki w odniesieniu do danych literaturowych. W pierwszej części odnosi się do badań



specyficzności substratowej badanych LPLAT-ów, wskazując, że skład kwasów tłuszczowych w pozycji sn-1 wpływa na aktywność tych enzymów i preferencje badanych enzymów mogą zmieniać się w zależności od ich lokalizacji w błonach komórkowych. Ponadto podaje, że sam zastosowany szczep drożdży jak i warunki reakcji silnie wpływają na aktywność/specyficzność substratową powyższych enzymów. Zarówno na podstawie wyników otrzymanych w ramach rozprawy jak i na podstawie wyników innych badaczy Doktorantka wysuwa ogólny wniosek, że enzym Ale1 preferuje jako donory kwasów tłuszczowych acylo-CoA z kwasami nienasyconymi a enzym Slc1 preferuje acylo-CoA z kwasami nasyconymi. Z kolei w przypadku enzymów AtLPEAT1 i AtLPEAT2, specyficzność substratowa wobec acylo-CA była inna niż w reakcjach z AtLPCAT2. Enzymy AtLPEAT1 i AtLPEAT2 preferowały podobne substraty a najlepszym donorem był tioester kwasu szesnastowęglowego. Następnie Doktorantka przechodzi do dyskusji nad kwestiami dotyczącymi remodelowania fosfolipidów błonowych, wskazując że ten proces może wpływać na utrzymanie prawidłowej homeostazy błon komórkowych. Sugeruje, że edycja grup acylowych fosfolipidów może zapewniać odpowiedni stosunek kwasów tłuszczowych nasyconych do nienasyconych w błonach komórkowych, w różnych warunkach temperaturowych rozwoju roślin, tak aby utrzymać płynność błon na odpowiednim poziomie. Podjęte przez Doktorantkę badania dotyczące wykazania udziału LPLAT-ów kodowanych przez geny *ALE1*, *SLC1*, *Atlg63050* (*AtPCAT2*) i *At2g45670* (*AtLPEAT2*) z genomu *S. cerevisiae* i *A. thaliana* w wymianie kwasów tłuszczowych pomiędzy pulą acylo-CoA i fosfatydylocholiną, fosfatydyloetanoloaminą oraz kwasem fosfatydowym ujawniły, że wszystkie z testowanych LPLAT-ów mają zdolność do przeprowadzania reakcji *backward*, aktywność tych enzymów jest różna w stosunku do poszczególnych fosfolipidów i nie zawsze koreluje z aktywnością obserwowaną w reakcji *forward*. Na podstawie wyników dotyczących specyficzności substratowej LPLAT-ów Doktorantka wnioskuje, że enzymy Ale1 i Slc1 mogą pełnić w komórce odmienną funkcję, co skłoniło Ją do sprawdzenia tej hipotezy poprzez określenie wpływu wyłączenia lub nadekspresji genów kodujących te białka na wzrost komórek drożdży oraz skład i zawartość lipidów w tych komórkach. W dalszej części *Dyskusji* Doktorantka odnosi się do badań dotyczących wpływu wyłączenia lub nadekspresji wybranych LPLAT-ów na rozwój roślin *A. thaliana*. W tym celu do badań zastosowano mutanty insercyjne w genie *Atlg80950* (*AtLPEAT1*) i mutanty insercyjne w genie *At2g45670* (*AtLPEAT2*), ponieważ brak było jakichkolwiek doniesień na temat morfologii roślin oraz składu i zawartości lipidów. Fakt ten świadczy o innowacyjności prowadzonych przez Doktorantkę badań. Nadekspresja badanych genów w *A. thaliana* powodowała, że rośliny produkowały większą ilość nasion, ale nie miała wpływu na całkowitą zawartość acylo-lipidów i na skład kwasów tłuszczowych tych lipidów. Zatem Doktorantka wnioskuje, cytuję „Wydaje się więc, że manipulacje genetyczne mające na celu wzrost aktywności enzymów AtLPEAT nie byłyby przydatne w próbach podniesienia zawartości oleju w jednostce masy nasion lub w próbach modyfikacji składu kwasów tłuszczowych tych olei. Mogłyby jednak przyczyniać się do poprawienia tempa wzrostu roślin i zwiększenia ilości/masy produkowanych przez nie nasion”. Chciałabym podkreślić, że *Dyskusja* jest najlepiej napisanym rozdziałem, w którym w uporządkowany i logiczny sposób Doktorantka przedstawia wyniki badań otrzymane w ramach dysertacji i odnosi do wyników publikowanych w literaturze; ten rozdział świadczy o dużej dojrzałości naukowej mgr Katarzyny Jasienieckiej-Gazarkiewicz.

### **Wnioski ogólne**

1. Wysoko pod względem merytorycznym i formalnym oceniam napisany przez mgr Katarzynę Jasieniecką-Gazarkiewicz rozdział *Wyniki i Dyskusję*
2. Mogę z przyjemnością stwierdzić, że mgr Katarzyna Jasieniecka-Gazarkiewicz w czasie realizacji celów pracy doktorskiej opanowała bogaty, nowoczesny warsztat badawczy i jestem przekonana, że to pozwoli Jej kontynuować pracę naukową w zakresie biologii molekularnej roślin
3. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki zasługują na uwagę badaczy zajmujących się powyższą tematyką. Poza tym wyniki badań mogą przyczynić się do opracowania metody pozyskiwania olei roślinnych, które w procesie produkcji biopaliw nie wymagają dodatkowych procesów obróbki, co zmniejsza koszty ich produkcji. Poza tym wyniki badań tej dysertacji mogą przyczynić się także do wyprowadzenia nowych odmian roślin oleistych produkujących oleje zawierające NKT o specyficznych właściwościach chemicznych i fizycznych, pożądaných z punktu widzenia przemysłu chemicznego. Rozprawa doktorska zasługuje na uznanie
4. Świadoma tego, że jest to wynik wysiłku nie tylko Doktorantki, ale także Jej promotora prof. dr hab. Antoniego Banasia gratuluję także wartościowej publikacji we współpracy z grupą badawczą ze Szwedzkiego Uniwersytetu Rolniczego w renomowanym czasopiśmie specjalistycznym

### **Wnioski końcowe**

**W świetle wyżej przedstawionej, bardzo pozytywnej oceny całej pracy doktorskiej mgr Katarzyny Jasienieckiej-Gazarkiewicz, w tym szczególnie oryginalnej wartości naukowej, stwierdzam, że oceniana praca doktorska spełnia wymagania Ustawy, stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień naukowy doktora i z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr Katarzyny Jasienieckiej-Gazarkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

**Mając na względzie wysoką ocenę strony merytorycznej rozprawy i opublikowane niektóre z wyników badań stanowiących przedmiot dysertacji zwracam się do Rady z propozycją rozważenia możliwości wyróżnienia rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Jasienieckiej-Gazarkiewicz .**

*J. Morckunas*