



UNIwersytet
Warszawski



dr hab. Adrianna Raczkowska

Warszawa, dn. 23.06.2026 r.

Zakład Mikrobiologii Molekularnej

Instytut Mikrobiologii

Wydział Biologii

Uniwersytet Warszawski

ul. Miecznikowa 1

02-096 Warszawa

mail: ad.raczkowska@uw.edu.pl

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Natalii Lewandowskiej

**pt. „Rola małych, niekodujących cząsteczek RNA w regulacji rozwoju bakteriofaga
Φ24B oraz jego gospodarza, bakterii *Escherichia coli* produkującej toksynę Shiga”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Natalii Lewandowskiej została wykonana w Laboratorium Biologii i Biotechnologii Bakteriofagów, w Katedrze Biologii Molekularnej, Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem dr hab. Bożeny Nejman-Faleńczyk, prof. UG oraz dr Sylwii Bloch, pełniącej funkcję promotora pomocniczego. Tematyka rozprawy dotyczy niezwykle aktualnego i dynamicznie rozwijającego się obszaru badań nad regulatorowymi sRNA pochodzenia fagowego. Szczególne znaczenie podjętej problematyki wynika z faktu, że bakterie *Escherichia coli* STEC należą do najgroźniejszych patogenów bakteryjnych człowieka, a produkcja toksyny Shiga jest bezpośrednio związana z obecnością bakteriofagów Stx w genomie bakterii. Zrozumienie mechanizmów regulujących przełączanie pomiędzy cyklem lizogenicznym i litycznym fagów Stx ma zatem znaczenie zarówno poznawcze, jak i potencjalnie aplikacyjne.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie cyklu czterech publikacji naukowych opublikowanych w latach 2023-2026, w tym trzech artykułów opublikowanych w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR) oraz jednego rozdziału metodycznego opublikowanego w renomowanej serii wydawniczej *Methods in Molecular Biology*. Przedłożona do oceny rozprawa obejmuje ponadto streszczenie w języku polskim i angielskim, omówienie celu i wyników badań, oświadczenia współautorów dotyczące ich udziału w powstaniu poszczególnych publikacji oraz wykaz osiągnięć naukowych Doktorantki.

W skład rozprawy wchodzi następujące publikacje:

1. **Lewandowska, N.**, Bloch, S., Łukasiak, A., Wesołowski, W., Węgrzyn, G., & Nejman-Faleńczyk, B. (2025). The role of bacteriophage-derived small RNA molecules in bacterial and phage interactions. *Viruses*, 17(6), 834, (doi.org/10.3390/v17060834).
2. Bloch, S., **Lewandowska, N.**, Zwolenkiewicz, J., Mach, P., Łukasiak, A., Olejniczak, M., Donaldson, L. W., Węgrzyn, G., & Nejman-Faleńczyk, B. (2023). Bacteriophage-encoded 24B_1 molecule resembles herpesviral microRNAs and plays a crucial role in the development of both the virus and its host. *Plos One*, 18(12), e0296038, (doi.org/10.1371/journal.pone.0296038).
3. Bloch, S., **Lewandowska, N.**, Zwolenkiewicz-Nowak, J., Mazur, M., Chylewska, A., Dąbrowska, A. M., Musiał, N., Czaplewska, P., Wesołowski, W., Łukasiak, A., Ferenc, M., Pietrzycki, M., Węglińska, E., Mach, P., Węgrzyn, G., Olejniczak, M., & Nejman-Faleńczyk, B. (2026). UpRoi1 - the phage-derived microRNA-size non-coding RNA molecule regulating both phage and its bacterial host development. *Biochimica et Biophysica Acta. Gene Regulatory Mechanisms*, 1869(1), 195135. (https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2026.195135).
4. **Lewandowska, N.**, Bloch, S., Chylewska, A., Dąbrowska, A. M., Mazur, M., Zwolenkiewicz, J., Wesołowski, W., Łukasiak, A., Węglińska, E., Olejniczak, M., Węgrzyn, G., & Nejman-Faleńczyk, B. (2026). Application of ultraviolet (UV) and circular dichroism (CD) spectroscopies to study RNA-RNA interactions of regulatory RNAs of bacteriophage origin. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 3004, 123–136. (https://doi.org/10.1007/978-1-0716-5084-4_8).

Sumaryczny współczynnik oddziaływania (Impact Factor) czasopism, w których opublikowano prace wchodzące w skład rozprawy, wynosi 9,5, natomiast ich łączna wartość punktowa według obowiązującego wykazu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego

wynosi 450 punktów. Wszystkie publikacje mają charakter wieloautorski, co jest typowe dla badań wymagających zastosowania zróżnicowanych metod eksperymentalnych i interdyscyplinarnego podejścia. Liczba współautorów poszczególnych prac wynosi od 6 do 17 osób. Mgr Natalia Lewandowska jest pierwszym autorem publikacji przeglądowej otwierającej cykl oraz współpierwszym (równorzędnym) autorem trzech pozostałych publikacji, przygotowanych wspólnie z dr Sylwią Bloch, co świadczy o jej znaczącym wkładzie w realizację przedstawionych badań i opracowanie uzyskanych wyników.

Z oświadczeń złożonych przez Doktorantkę oraz współautorów wynika, że mgr Natalia Lewandowska miała znaczący wkład w powstanie prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Jej udział obejmował planowanie i wykonanie znacznej części badań eksperymentalnych, analizę i interpretację uzyskanych wyników, przeprowadzenie analiz bioinformatycznych, a także współudział w przygotowaniu ostatecznych wersji manuskryptów, w tym opracowaniu materiału ilustracyjnego oraz przygotowywaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Na podstawie przedstawionych oświadczeń można stwierdzić, że spełnione zostały wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim przygotowywanym w formie cyklu publikacji naukowych.

Należy również podkreślić, że badania przedstawione w publikacjach stanowiących podstawę rozprawy były finansowane ze środków dwóch projektów Narodowego Centrum Nauki: projektu SONATA BIS 8, kierowanego przez dr hab. Bożenę Nejman-Faleńczyk, prof. UG, pełniącą funkcję opiekuna naukowego Doktorantki, oraz projektu OPUS 15, realizowanego pod kierownictwem prof. dr. hab. Grzegorza Węgrzyna.

Głównym celem rozprawy było poznanie roli małych regulatorowych RNA pochodzenia fagowego w regulacji rozwoju bakteriofaga $\Phi 24B$ oraz jego gospodarza, patogennej bakterii *E. coli* STEC. Tematyka ta wpisuje się w jeden z najbardziej dynamicznie rozwijających się nurtów współczesnej mikrobiologii molekularnej, koncentrujący się na poznawaniu nowych mechanizmów regulacji ekspresji genów. Szczególne znaczenie podjętych badań wynika z faktu, że dotyczą one bakteriofaga $\Phi 24B$, należącego do grupy fagów przenoszących geny toksyny Shiga, odpowiedzialnej za wirulencję szczepów *E. coli* powodujących ciężkie zakażenia u ludzi. W mojej ocenie najważniejszym osiągnięciem rozprawy jest wykazanie, że bakteriofagi mogą wykorzystywać bardzo krótkie regulatorowe RNA, przypominające eukariotyczne mikroRNA, do kontrolowania zarówno własnego cyklu życiowego, jak i procesów zachodzących w komórce gospodarza. Szczególnie wartościowe są wyniki dotyczące

cząsteczki 24B_1, która stanowi pierwszy funkcjonalnie scharakteryzowany przykład fagowego RNA o rozmiarze zbliżonym do mikroRNA. Badania wykazały, że cząsteczka ta wpływa na przebieg rozwoju bakteriofaga Φ 24B, promując rozwój lizogeniczny oraz modulując ekspresję licznych genów bakteryjnych. Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład do wiedzy dotyczącej regulacji ekspresji genów przez sRNA w układach prokariotycznych.

Na szczególne podkreślenie zasługuje również identyfikacja i charakterystyka nowej cząsteczki regulatorowej UpRoi1. Odkrycie to znacząco rozszerza dotychczasową wiedzę o występowaniu i funkcjonowaniu sRNA pochodzenia fagowego. Przedstawione wyniki wskazują, że UpRoi1 uczestniczy w regulacji rozwoju zarówno bakteriofaga, jak i jego gospodarza, oddziałując na ekspresję genów związanych z odpowiedzią komórki na stres oraz procesami regulującymi przejście pomiędzy cyklem lizogenicznym i litycznym. Otrzymane dane sugerują, że podobne cząsteczki mogą stanowić ważny, dotychczas niedoceniany element sieci regulacyjnych występujących w układach fag-bakteria.

Wysoko oceniam również spójność koncepcji badawczej rozprawy. Pomimo że została ona przygotowana w formie cyklu publikacji, poszczególne prace nie stanowią zbioru niezależnych badań, lecz tworzą logiczną i konsekwentnie rozwijaną całość. Rozprawa rozpoczyna się od krytycznego przeglądu aktualnego stanu wiedzy na temat fagowych regulatorowych RNA, następnie przedstawia szczegółową analizę funkcjonalną cząsteczki 24B_1, rozszerza badania o identyfikację kolejnego regulatora UpRoi1, a kończy się opracowaniem i prezentacją metod umożliwiających badanie oddziaływań RNA-RNA. Taka konstrukcja świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki i umiejętności prowadzenia długofalowego, dobrze zaplanowanego projektu badawczego.

Na uwagę zasługuje także szeroki zakres zastosowanych metod badawczych. Doktorantka wykorzystwała zarówno klasyczne metody mikrobiologiczne i genetyczne, jak również zaawansowane techniki biologii molekularnej, analizy transkryptomiczne oraz metody biofizyczne służące do badania oddziaływań pomiędzy cząsteczkami RNA. Świadczy to o bardzo dobrym przygotowaniu warsztatowym oraz umiejętności integrowania danych pochodzących z różnych źródeł w celu formułowania spójnych wniosków biologicznych.

Należy również podkreślić bogatą działalność naukową mgr Natalii Lewandowskiej, która wyraźnie wykracza poza wymagania stawiane uczestnikom szkół doktorskich. Dorobek publikacyjny Doktorantki obejmuje jedenaście prac naukowych opublikowanych w latach

2021-2026, w tym artykuły oryginalne, prace przeglądowe oraz publikacje metodyczne ukazujące się w renomowanych czasopismach międzynarodowych, takich jak *Biochimica et Biophysica Acta – Gene Regulatory Mechanisms*, *Viruses*, *Journal of Applied Genetics*, *Nucleic Acids Research*, *PLoS ONE*, *Plasmid* czy *Virology*.

Doktorantka aktywnie prezentowała wyniki swoich badań na konferencjach naukowych o zasięgu krajowym, zarówno w formie wystąpień ustnych, jak i licznych prezentacji posterowych. O wysokiej jakości prowadzonych badań świadczy również uzyskanie nagrody za prezentację posterową podczas VI Polskiego Kongresu Genetyki w 2022 roku. Ponadto mgr Natalia Lewandowska odbyła specjalistyczne staże naukowe zarówno w kraju, w Pracowni Biochemii RNA Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, jak i za granicą tj. w ośrodku Synchrotron SOLEIL we Francji, gdzie miała możliwość poszerzenia warsztatu badawczego oraz nawiązania współpracy międzynarodowej.

Warto również podkreślić aktywny udział Doktorantki w realizacji projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki, w tym projektów SONATA BIS, OPUS oraz SONATA, dotyczących molekularnych mechanizmów regulacji rozwoju bakteriofagów i funkcjonowania regulatorowych RNA. Udział w kilku projektach badawczych potwierdza wysokie kompetencje naukowe Doktorantki oraz jej istotną rolę w realizowanych przedsięwzięciach badawczych.

Bogata działalność naukowa Doktorantki, obejmująca dorobek publikacyjny, aktywność konferencyjną oraz udział w projektach badawczych, znajduje odzwierciedlenie w wysokiej jakości przedstawionej rozprawy doktorskiej. Praca została przygotowana bardzo starannie, charakteryzuje się wysokim poziomem merytorycznym, a uzyskane wyniki są przekonujące, dobrze udokumentowane i właściwie zinterpretowane. Niemniej jednak kilka zagadnień poruszonych w pracy wydaje się szczególnie interesujących i może stanowić punkt wyjścia do dyskusji podczas publicznej obrony.

Interesującym zagadnieniem wydaje się ewolucyjne znaczenie występowania u bakteriofagów regulatorowych RNA wykazujących podobieństwo do eukariotycznych mikroRNA. Czy podobieństwa te należy traktować jako rezultat niezależnego wykształcenia zbliżonych mechanizmów regulacyjnych w toku ewolucji, czy też mogą one wskazywać na istnienie bardziej uniwersalnych zasad regulacji ekspresji genów, wspólnych dla organizmów należących do różnych domen życia?

Kolejną interesującą kwestią jest molekularny mechanizm działania badanych regulatorów sRNA. Rozprawa dostarcza przekonujących dowodów na wpływ sRNA 24B_1 i UpRoi1 na rozwój bakteriofaga oraz fizjologię komórki gospodarza, a także wskazuje szereg procesów komórkowych podlegających ich regulacji. Czy na obecnym etapie badań można wskazać jeden dominujący cel molekularny odpowiedzialny za obserwowany efekt biologiczny, czy raczej mamy do czynienia z regulacją sieciową, wynikającą z jednoczesnego oddziaływania na wiele transkryptów? Innymi słowy, czy zmiana poziomu ekspresji pojedynczego genu byłaby wystarczająca do odtworzenia obserwowanego fenotypu, czy też efekt ten jest wynikiem skoordynowanego oddziaływania regulatora na wiele różnych celów molekularnych?

Ostatnie pytanie ma charakter bardziej aplikacyjny. Jednym z najważniejszych problemów związanych z zakażeniami wywoływanymi przez szczepy *E. coli* STEC jest produkcja toksyny Shiga, której ekspresja jest bezpośrednio związana z aktywnością fagów Stx. Wyniki przedstawione w rozprawie wskazują, że sRNA pochodzenia fagowego mogą wpływać na przebieg rozwoju bakteriofaga oraz utrzymanie stanu lizogenii. W związku z tym interesujące byłoby poznanie opinii Doktorantki, czy w przyszłości możliwe byłoby wykorzystanie tego typu regulatorów lub wiedzy o mechanizmach ich działania do opracowania nowych strategii ograniczania produkcji toksyny Shiga. Czy modulowanie aktywności takich cząsteczek mogłoby stanowić podstawę nowych metod kontroli ekspresji genów toksyny lub ograniczania indukcji profaga w komórkach bakteryjnych?

Chciałabym podkreślić, że powyższe pytania wynikają z dużej wartości poznawczej przedstawionych badań i mają na celu rozwinięcie dyskusji naukowej nad niezwykle interesującymi zagadnieniami poruszonymi przez Doktorantkę.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Natalii Lewandowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego z zakresu mikrobiologii molekularnej i biologii bakteriofagów. Uzyskane wyniki mają wysoką wartość poznawczą, zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych i świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do samodzielnej pracy badawczej.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Natalii Lewandowskiej spełnia wymagania określone w art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę o dopuszczenie

Pani mgr Natalii Lewandowskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy rozprawy, oryginalność uzyskanych wyników, ich znaczenie dla rozwoju wiedzy w zakresie biologii bakteriofagów oraz znaczący dorobek naukowy Doktorantki, zwracam się również do Wysokiej Rady z wnioskiem o rozważenie wyróżnienia rozprawy doktorskiej mgr Natalii Lewandowskiej.



dr hab. Adrianna Raczkowska