



Prof. dr hab. n. med. Izabela Zawlik
Kierownik Zakładu Genetyki Ogólnej
Kierownik Laboratorium Biologii Molekularnej
Przyrodniczo-Medyczne Centrum Badań Innowacyjnych
Wydział Medyczny
Uniwersytet Rzeszowski

Rzeszów, 19.10.2025

Uzasadnienie wniosku o wyróżnienia rozprawy doktorskiej mgr inż. Klaudii Marlickiej pt. „Fuzyjne polimerazy do amplifikacji izotermicznej kwasów nukleinowych”

Recenzowana praca doktorska zasługuje na wyróżnienie ze względu na wysoką jakość badań oraz szczególne walory poznawcze i aplikacyjne. Celem pracy było zaprojektowanie oraz charakterystyka fuzyjnych wariantów polimeraz DNA o ulepszonych właściwościach do zastosowań w izotermicznej amplifikacji DNA. W pracy doktorskiej wykonano następujące zadania: 1. Zaprojektowanie i otrzymanie konstruktów genowych kodujących białka fuzyjne oraz referencyjne; 2. Optymalizacja procesu otrzymywania i oczyszczania polimeraz DNA; 3. Wyznaczenie aktywności enzymów fuzyjnych; 4. Optymalizacja amplifikacji izotermicznej DNA; 5. Zbadanie właściwości otrzymanych polimeraz DNA.

Cele badawcze pracy realizowano przy użyciu dwóch reakcji i odpowiednich zaangażowanych w nie enzymów tj.: reakcji RPA (ang. *Recombinase Polymerase Amplification*) z polimerazą Bsu z *Bacillus subtilis* oraz reakcji amplifikacji toczącego się koła (ang. *Rolling Circle Amplification*, RCA) z polimerazą Phi29 z faga Φ29. Do stworzenia fuzyjnych polimeraz zastosowano trzy białka wiążące DNA: gp32 z faga T4 oraz pochodzące z *Nanoarchaeum equitans* NeqSBB i Neq150. Większość genetycznych konstruktów dla białek fuzyjnych uzyskano metodą klonowania Gibsona.

W ramach realizacji pracy doktorskiej uzyskano funkcjonalne warianty polimerazy Bsu. Opracowanie nowych wariantów fuzyjnych polimerazy Bsu o poprawionych właściwościach może stać się podstawą do tworzenia nowych testów diagnostycznych, opartych o reakcję amplifikacji izotermicznej RPA. Wyniki uzyskane dla

polimeraz fuzyjnych Bsu z białkami gp32 oraz Neq150 stanowiły podstawę do złożonych dwóch wniosków patentowych.

Niniejsza praca doktorska stanowi istotny wkład w dotychczasową wiedzę naukową dotyczącą zastosowania opracowanych polimeraz fuzyjnych do amplifikacji kwasów nukleinowych w warunkach izotermicznych. Uzyskane w pracy wyniki otwierają możliwości praktycznego ich zastosowania do opracowania szybkiej i łatwej metody diagnostyki molekularnej alternatywnej do metody PCR. Temat podjęty przez Doktorantkę jest szczególnie istotny dla opracowania nowych rozwoju metod amplifikacji kwasów nukleinowych bez użycia termocyklera.

Rozprawa doktorska świadczy o ogromnej wiedzy teoretycznej Doktorantki we wskazanej dyscyplinie naukowej oraz wskazuje na umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Doktorantka posiada znaczący dorobek naukowy; sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 14,84 oraz jest współautorką 4 zgłoszeń patentowych.

Niniejsza rozprawa doktorska stanowi rozszerzenie wiedzy na temat fuzji polimeraz DNA oraz ich zastosowania w izotermicznej amplifikacji DNA i diagnostyce molekularnej.

Uwzględniając ważność podjętego problemu badawczego, innowacyjność pracy oraz osiągnięcia naukowe Doktorantki wnoszę o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej.