

prof. dr hab. Artur Jarmołoski  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza  
Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii  
Zakład Ekspresji Genów  
ul. Umultowska 89  
61-614 Poznań  
tel. 61-829-5959  
e-mail: artjarmo@amu.edu.pl

Poznań, 09. 08. 2018

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Damiana Mikołaja Janeckiego pt.  
„Potranskrypcyjna regulacja SPINDLIN, potencjalnych modulatorów cyklu  
komórkowego i apoptozy, w modelu nasieniaka człowieka”**

Praca doktorska mgr inż. Damiana M. Janeckiego została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jadwigi Jaruzelskiej, w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu. Promotorem pomocniczym ocenianej rozprawy jest dr Barbara Ginter-Matuszewska. Tematyka pracy mgr inż. Damiana M. Janeckiego dotyczy potranskrypcyjnej regulacji ekspresji białek SPIN oraz ich roli w powstawaniu groźnych nowotworów jądra typu zarodkowego. Praca Doktoranta dotyczy także pośrednio zaangażowania spindlin w rozwój i kontrolę proliferacji męskich komórek gametogenicznych. Temat rozprawy jest interesujący i nowatorski. Białka SPIN to grupa polipeptydów zawierających trzykrotnie powtórzoną domenę Tudor, dzięki której oddziałują one ze specyficznie zmodyfikowanymi resztami aminokwasowymi histonu H3. Najlepiej scharakteryzowane, należące do tej grupy białko SPIN1 zostało opisane jako czynnik wiążący się z wrzecionem kariokinetycznym. Nadekspresja SPIN1 zaburza mitozę i segregację chromosomów. Wykazano, że SPIN1 bierze udział w regulacji cyklu komórkowego, proliferacji oraz apoptozy. Co więcej, zaobserwowano podwyższoną ekspresja SPIN1 w wielu komórkach nowotworowych. Poziom SPIN1 kontrolowany jest przez białko PUM1. Białko to jest członkiem rodziny PUMILIO, której przedstawiciele posiadają charakterystyczną domenę wiążącą RNA, w skrócie określaną jako PUF. Domena ta odpowiedzialna jest za rozpoznanie specyficznej

sekwencji w docelowych mRNA, powodując ich represję. PUMILIO oddziałują z różnymi partnerami białkowymi, z których najważniejszą grupę tworzą białka NANOS. Mechanizm i znaczenie fizjologiczne regulacji ekspresji genów przez kompleksy PUMILIO/NANOS znajdują się od wielu lat w centrum zainteresowania laboratorium prowadzonym przez prof. dr hab. Jadwigę Jaruzelską. Zespół prof. dr hab. Jadwigi Jaruzelskiej systematycznie i skutecznie rozpracowuje udział kompleksu PUMILIO/NANOS w rozwoju ludzkich komórek germinatywnych, a także stara się poznać wpływ zaburzeń potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów przez białka PUM i NANOS w procesie nowotworzenia oraz odkrywa i opisuje zaburzenia działania białek PUM i NANOS powiązane z męską bezpłodnością. Przedstawiona do recenzji praca doskonale wpisuje się w ten niezwykle interesujący nurt badań, a jej wyniki dostarczają nowych informacji pozwalających lepiej zrozumieć badane zależności. Nie mam najmniejszych wątpliwości, że podjęty przez Doktoranta temat rozprawy jest ważny nie tylko z uwagi na jego czysto poznawczy charakter, ale także na możliwości wykorzystania uzyskanych wyników w praktyce, głównie w diagnostyce. W przyszłości uzyskane wyniki mogą stać się również podstawą nowych terapii stosowanych w leczeniu raka jądra oraz męskiej bezpłodności.

Przedstawiona do oceny rozprawa ma układ klasyczny. Rozpoczyna się obszernym, opartym na danych literaturowych wstępem, który został przygotowany bardzo starannie. Wykorzystane do przygotowania wstępu informacje pochodzą z najnowszej literatury naukowej. Nie ukrywam, że przygotowany przez Doktoranta przegląd literaturowy czytałem z wielką przyjemnością i zainteresowaniem. Wstęp, a także pozostałe rozdziały pracy doktorskiej mgr inż. Damiana M. Janeckiego zostały napisane bez większych błędów językowych. Jak w każdej pracy, tak i w tej znajdują się zawsze pewne niezręczności językowe, które jednak nie utrudniły mi w żaden sposób analizę tekstu. Na przykład, chciałbym Doktorantowi zwrócić uwagę, że w języku polskim nazwy gatunków pisze się w całości małymi literami, a nie tak jak po łacinie – pierwszy człon z wielkiej, a drugi z małej litery. Nie podoba mi się również termin „struktura krystaliczna” jako informacja, że przedstawiona struktura białkowa została rozwiązana przy pomocy metod krystalograficznych. Może lepiej „struktura krystalograficzna” lub po prostu „struktura przestrzenna”?

W następnym rozdziale ocenianej pracy doktorskiej mgr inż. Damian M. Janecki przedstawił jej założenia i cele. Dowiadujemy się z tej części rozprawy, że jej celem było poznanie roli dwóch paralogów ludzkiego białka SPIN1 - SPIN3 i SPIN4. Te dwa bardzo podobne do siebie białka nie były to tej pory scharakteryzowane pod względem pełnionych przez nie funkcji. Doktorant postanowił odpowiedzieć na zasadnicze pytanie, czy SPIN3 i SPIN4, podobnie jak SPIN1, mogą pełnić funkcje modulatorów apoptozy, proliferacji i cyklu komórkowego. Drugie pytanie, które zadał sobie mgr inż. Damian M. Janecki dotyczyło regulacji ekspresji SPIN3 i SPIN4. Autor rozprawy postanowił sprawdzić, czy białka PUMILIO (PUM1 i PUM2), a także współpracujące z nimi kofaktory białkowe NANOS (NANOS1, NANOS2, NANOS3), biorą udział w regulacji poziomu białek SPIN3 i SPIN4. Cele rozprawy zostały bardzo precyzyjnie opisane i konsekwentnie przez mgr inż. Damiana M. Janeckiego zrealizowane.

Następny rozdział rozprawy opisuje użyte w badaniach odczynniki, a przede wszystkim metodykę przeprowadzonych eksperymentów i nie mam do tej części poważniejszych uwag. Chciałby w tym miejscu podkreślić, że metody badawcze zastosowane w pracy zostały prawidłowo dobrane do zadanych pytań naukowych. Pewne moje zastrzeżenia budzi zastosowanie przejściowej ekspresji w badaniach wpływu określonych białek na przebieg cyklu komórkowego, ale przedstawione przez Doktoranta eksperymenty kontrolne przekonały mnie, że doświadczenia te dostarczyły w pełni wiarygodnych danych. Wszystkie zastosowane przez Doktoranta techniki doświadczalne są w rozprawie precyzyjnie opisane; zamieszczone w rozdziale Materiały i metody opisy umożliwiły mi rzeczową analizę wykonanych przez mgr Damiana M. Janeckiego doświadczeń. Na szczególne podkreślenie zasługuje jakość techniczna zaprezentowanych wyników. Zarówno analizy typu western, jak i badania kompleksów metodą retardacji żelowej zasługują na najwyższą ocenę. Nie wątpię, że przygotowane i zawarte w manuskrypcie opisy metodyczne będą pomocne innym doktorantom Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu.

W rozdziale zatytułowanym Wyniki mgr inż. Damian M. Janecki szczegółowo opisał rezultaty wykonanych przez siebie doświadczeń. Na początku, zgodnie z przyjętym głównym celem badawczym, mgr inż. Damian M. Janecki sprawdził wpływ SPIN3 i SPIN4 na proliferację komórek TCam-2. Wykorzystana przez Doktoranta

linia komórkowa została wyprowadzona z nasieniaka, jednego z typów nowotworu pochodzącego z komórek germinalnych człowieka. Linia ta jest świetnym modelem męskich komórek gametogenicznych. Doktorant, wykorzystując linię TCam-2, zwiększył poziom ekspresji białek SPIN1, SPIN3 i SPIN4, transfekując komórki odpowiednio przygotowanymi konstrukcjami ekspresyjnymi. Badając konfluencję hodowanych komórek mgr inż. Damian M. Janecki wykazał, że nadekspresja SPIN1, zgodnie z wcześniejszymi obserwacjami pochodzącymi z komórek tłuszczakomięsa, przyspiesza proliferację komórek TCam-2. Przeciwny efekt był obserwowany przy nadekspresji SPIN4, natomiast nadekspresja SPIN3 tylko w niewielkim stopniu obniżała proliferację, przy czym efekt ten nie był istotny statystycznie.. Przedstawione w rozprawie wyniki po raz pierwszy pokazały, że dwa paralogi SPIN1, SPIN3 i SPIN4, mogą i najprawdopodobniej pełnią w komórce różne funkcje. Ciekawym wynikiem jest, moim zdaniem, obserwacja wskazująca na zróżnicowaną stabilność białek SPIN. Przedstawione dane pokazują, że przy nadekspresji SPIN3 i SPIN4 włącza się kontrola ich poziomu, podczas gdy w przypadku SPIN1 to obniżenie ekspresji w czasie jest dużo mniejsze. Czy sprawdzono na jakim etapie ekspresji SPIN3 i SPIN4 (transkrypcyjnym, potranskrypcyjnym, translacyjnym, potranslacyjnym) zachodzi ta regulacja? W następnym eksperymencie mgr inż. Damian M. Janecki sprawdził, czy nadekspresja spindlin w komórkach TCam-2 indukuje apoptozę. Uzyskane wyniki jednoznacznie wykazały, że SPIN1 obniża, a SPIN3 i SPIN4 przeciwnie, wzmagają apoptozę. Wykonano także doświadczenia, w których wyciszono ekspresję SPIN1, SPIN3 i SPIN4, stosując odpowiednie siRNA. W przypadku wyciszenia ekspresji SPIN1 uzyskany wynik był zgodny z oczekiwaniami - obniżenie poziomu endogennego białka spowodowało wzmożenie apoptozy. Co zastanawiające, obniżenie poziomu SPIN3 i SPIN4 nie miało istotnego wpływu na poziom apoptozy transfekowanych komórek TCam-2. Analizując dane uzyskane metodą RNA-seq Autor rozprawy wykazał, że poziom SPIN3 i SPIN4 jest dużo niższy niż SPIN1, stąd zrozumiał jest brak efektów wyciszenia ekspresji *SPIN3* i *SPIN4*. Na stronie 66 zauważyłem, że poziom ekspresji spindlin w komórkach TCam-2 podany został w dziwnych jednostkach – liczba cząsteczek na  $\mu\text{l}$  cDNA, co wydaje mi się mało profesjonalne. Dodatkowo we wszystkich eksperymentach związanych z nadekspresją i wyciszaniem ekspresji danej spindliny proponowałbym kontrole poziomu pozostałych paralogów SPIN. Być może zaplanowane zmiany ekspresji powodują fluktuacje

poziomów endogennych białek SPIN i ten dodatkowy efekt zaburza ostateczny wynik takiego eksperymentu. Przy wyciszaniu dobrze byłoby kontrolować również poziom mRNA wszystkich trzech badanych genów: *SPIN1*, *SPIN3* i *SPIN4* w każdej z prób. Czy wykonano takie analizy? Magister inż. Damian M. Janecki postanowił następnie sprawdzić, jaki efekt na cykl komórkowy ma nadekspresja *SPIN3* i *SPIN4*. Ten eksperyment także wykonano w układzie ekspresji przejściowej, co wydaje mi się dość ryzykowne, z uwagi na dość krótki czas wysokiego poziomu ekspresji badanych białek. Wykorzystany przez Doktoranta układ badawczy został jednak dobrze skontrolowany poprzez nadekspresję białek P21 i P16, które są inhibitorami kinaz zależnych od cyklin. Z wykonanych eksperymentów wynika, że *SPIN1* i *SPIN3* przyspieszają, a *SPIN4* nie ma wpływu na przebieg cyklu komórkowego. Doświadczenia, w których wyciszono ekspresję poszczególnych spindlin pokazały, że obniżenie poziomu *SPIN1* spowodowało zwolnienie cyklu komórkowego, jednak nie obserwowano takiego zjawiska w przypadku wyciszenia ekspresji genu *SPIN3*. Czy wykonano podobne doświadczenie dla *SPIN4*? Zdaje sobie sprawę, że nie obserwowano efektu nadekspresji *SPIN4* na cykl komórkowy, ale byłoby dobrze, nawet jako kontrola negatywna, zobaczyć też efekty wyciszenia ekspresji *SPIN4*. Tak jak już wspomniałem wcześniej, analiza cyklu komórkowego powinna być przeprowadzona w układzie stałej nadekspresji białek SPIN. Dotyczy to również obserwacji zmian morfologii komórek TCam-2 pod wpływem nadekspresji *SPIN1*, *SPIN3* i *SPIN4*. W badaniach tego typu powinno się stosować linie komórkowe o stałej nadekspresji badanych białek. Mam pytanie dotyczące rysunków przedstawiających wpływ białek SPIN na cykl komórkowy. Nie mogę zorientować się co oznacza na wykresach GFP- i GFP+. Być może gdzieś w pracy jest to wyjaśnione, ale ja nie mogłem znaleźć tej informacji ani w podpisach pod rysunkami, ani w rozdziale Materiały i metody. Magister inż. Damian M. Janecki porównał następnie poziom nadekspresji badanych białek *SPIN1*, *SPIN3*, *SPIN4* w linii HEK293T (czyli w komórkach nienowotworowych) i w nowotworowej linii HeLa. Wyniki tego eksperymentu jednoznacznie wskazują, że profil nadekspresji spindlin jest podobny w komórkach nowotworowych i różni się on od profilu ekspresji białek SPIN w komórkach HEK293T. We wcześniejszych badaniach zidentyfikowano mRNA *SPIN1* wśród cząsteczek RNA oddziałujących z białkiem PUM1. Autor rozprawy postanowił sprawdzić, czy w 3'UTR mRNA *SPIN1*, *SPIN3* i *SPIN4* znajdują się motywy, które mogłyby być rozpoznawane przez białka z domeną PUF. Doktorant

odnalazł 13 takich motywów w 3'UTR mRNA *SPIN1*, 3 w mRNA *SPIN3* i 6 w mRNA *SPIN4*. Magister inż. Damian M. Janecki skontrolował, czy mRNA *SPIN1*, *SPIN3* i *SPIN4* oddziałują z białkami PUM1 i PUM2 w komórkach TCam-2. W tym celu wykonał klasyczny eksperyment typu RIP i wykazał, że z PUM1 i PUM2 współwytrącają się mRNA *SPIN1* i *SPIN3*, ale nie mRNA *SPIN4*. W tym prawidłowo wykonanym eksperymencie brakuje mi jednak analizy innych mRNA, które nie posiadają sekwencji rozpoznawanych przez PUF, jako kontroli negatywnej wykonanego doświadczenia. A może takie reakcje zostały przeprowadzone, ale nie znalazły się w rozprawie? Doktorant postanowił sprawdzić, czy zidentyfikowane przez niego w sekwencjach 3'UTR motywy rozpoznawane przez domenę PUF wpływają na poziom *SPIN1*, *SPIN3* i *SPIN4*. Fragmenty 3'UTR mRNA *SPIN1*, *SPIN3* i *SPIN4* zostały dołączone do sekwencji kodującej lucyferazę. Uzyskanymi konstruktami stransfekowano komórki TCam-2, w których mierzono następnie aktywność lucyferazy. W opisanym w rozprawie doświadczeniu porównano ekspresję genu lucyferazy z wynikiem uzyskanym z komórek, w których równocześnie wprowadzono dodatkowy wektor kodujący PUM1 lub PUM2. Zauważono, że we wszystkich przypadkach nadekspresja któregokolwiek z białek PUMILIO powodowała represję lucyferazy, niezależnie czy 3'UTR w badanym konstrukcie pochodził ze *SPIN1*, *SPIN3* czy *SPIN4*. Kontrolą w tym eksperymencie był 3'UTR genu *GAPDH*. Kiedy z kolei wyciszono geny *PUM1*, *PUM2* lub oba geny równocześnie, obserwowano zaskakujący efekt obniżenia aktywności lucyferazy lub też poziom lucyferazy pozostawał ten sam w komórkach o normalnej lub wyciszonej ekspresji genów *PUM1* i *PUM2*. Wyniki te nie są dla mnie jasne i dość trudne do interpretacji. Zgadzam się z Autorem rozprawy, że uzyskane dane sugerują, że funkcje PUM1 i PUM2, pomimo strukturalnego podobieństwa ich domen PUF, nie są w pełni identyczne. Warto zwrócić w tym miejscu uwagę, na interesujący wynik wskazujący na wzrost poziomu PUM2 przy wyciszeniu ekspresji genu *PUM1*. Rezultat ten wskazuje na udział PUM1 w regulacji poziomu PUM2. Do omówienia tego zagadnienia wrócę jeszcze w dalszej części recenzji. W bardzo eleganckich eksperymentach retardacyjnych mgr inż. Damian M. Janecki pokazał, że fragment 3'UTR mRNA *SPIN3*, zawierający motyw rozpoznawany przez białka PUM, tworzy kompleks zarówno z domeną PUF1 jak i PUF2. Muszę powiedzieć, że dawno nie widziałem tak doskonale przeprowadzonych analiz typu *gel shift*. Doktorant wykonał te doświadczenia wzorcowo, ze wszystkim kontrolami, np. test kompetycji tworzenia

kompleksu z wykorzystaniem specyficznego i niespecyficznego RNA. W ocenianej pracy zaprezentowano także wyniki wskazujące, że zmutowanie miejsc rozpoznawanych przez białka PUM tylko częściowo cofa represję ekspresji genu lucyferazy, co wskazuje na bardziej złożony mechanizm regulacji ekspresji *SPIN3* w komórkach TCam-2. Ponieważ Doktorant zauważył wcześniej zależność ekspresji *PUM2* od poziomu białka PUM1, postanowił sprawdzić, czy białka PUM1 i PUM2 oddziałują z ich własnymi mRNA. Uzyskane wyniki jednoznacznie pokazały, że oba mRNA znajdują się w kompleksach zawierających PUM1 i PUM2. W sekwencjach 3'UTR obu badanych mRNA Autor rozprawy zidentyfikował w 3'UTR-ach mRNA *PUM1* i *PUM2* motywy rozpoznawane przez domenę PUF. W tym eksperymencie przydałaby się jednak próba kontrolna w postaci mRNA, które nie posiadają takich miejsc wiązania. Magister inż. Damian M. Janecki wykazał następnie, że nadekspresja PUM1, ale nie PUM2 hamuje proliferację komórek TCam-2. Dlaczego równocześnie nie monitorowano w tym eksperymencie poziomu *SPIN1*? Aż prosi się, aby wykonać taką analizę. PUM1 znacząco stymulował także apoptozę. Podobnie działało również białko PUM2, chociaż jego efekt nie był już tak spektakularny. Sprawdzone także, jaki efekt ma nadekspresja białek PUM na cykl komórkowy. Zarówno białko PUM1, jak i PUM2 powodowało nieznaczne spowolnienie cyklu komórkowego, sugerując, że efekt ten jest powiązany regulacją poziomu białka *SPIN1*. Ponieważ białka NANOS, u człowieka *NANOS1*, *NANOS2* i *NANOS3*, współdziałają z białkami PUMILIO w potranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów, Autor ocenianej rozprawy sprawdził także wpływ tych kofaktorów na regulację ekspresji białek SPIN. W tym eksperymencie wykorzystano test lucyferazowy, w którym ponownie sprawdzono wpływ sekwencji 3'UTR poszczególnych spindlin na poziom aktywności lucyferazy w transfekowanych komórkach TCam-2. Doświadczenie to pokazało, że różne białka NANOS mogą mieć różny wpływ na represję mRNA badanych spindlin. Co więcej, Doktorant pokazał, że nadekspresja *NANOS2* i *NANOS3* spowalnia proces proliferacji komórek TCam-2, natomiast wzrost poziomu *NANOS1* nie wywołuje takiego efektu. Z kolei *NANOS1* działał antyapoptycznie, a nadekspresja *NANOS2* i *NANOS3* nie stymulowała, ani nie hamowała apoptozy. Na podstawie przedstawionych wyników i ich korelacji z wcześniejszymi analizami roli sekwencji 3'UTR *SPIN1*, *SPIN3* i *SPIN4* w regulacji ekspresji lucyferazy Autor rozprawy stwierdził, że obserwowany wpływ nadekspresji białek PUM i NANOS na proliferację i apoptozę związany jest bezpośrednio z

modyfikacją ekspresji poszczególnych spindlin. Chociaż taka korelacja na pewno ma miejsce, brakuje bezpośredniego dowodu, pochodzącego z jednego eksperymentu pokazującego, że nadekspresja danego białka przekłada się na zmianę poziomu innego i to jest ostatecznie skorelowane z określonym procesem molekularnym. Doktorant przedstawił co prawda wyniki doświadczeń, w których wykazał, że zmutowanie miejsc wiązania domeny PUF powoduje częściowe zniesienie represji *SPIN1* spowodowane nadekspresją tego białka. Czy jednak w pełni uprawnione są zdania, w których mówi się, że: „Białko NANOS działa anty-apoptycznie, m.in. poprzez represję mRNA *SPIN3* i *SPIN4*” albo „Białka NANOS2 i NANOS3 powodują spowolnienie proliferacji, m. in. poprzez represję mRNA *SPIN1*”. Czy te stwierdzenia nie są zbyt mocne? Oczywiście Autor sprawdził tworzenie się kompleksu NANOS2/ domena PUF2/ fragment 3'UTR *SPIN3*, co znacznie wzmacnia przytoczone powyżej wnioski, ale nadal brakuje bardziej bezpośrednich dowodów takiego mechanizmu. Mam nadzieję, że mgr inż. Damian M. Janecki planuje wykonanie takich eksperymentów w przyszłości. Najlepsze moim zdaniem wyniki przedstawione są pod koniec ocenianej rozprawy. Odkrycie, że zmutowana wersja NANOS1, zidentyfikowana u nieplodnego pacjenta pozbawionego komórek gametogenicznych (tak zwany zespół samych komórek Sertolego) powoduje zniesienie represji *SPIN3*, wzmacniając jednocześnie represję *SPIN1* zasługuje na największą uwagę. Co więcej, Autor udowodnił, że analizowana mutacja NANOS1 odpowiada za zwolnienie proliferacji i działa proapoptycznie. Zmutowane NANOS1 niweluje też efekt spowolnienia cyklu komórkowego wywołanego przez prawidłowe białko NANOS1. Jestem pod wielkim wrażeniem tych wyników, które, jeszcze raz podkreślam, uważam za najoryginalniejsze w całej rozprawie doktorskiej. Wyniki te powinny znaleźć się w artykule opublikowanym w prestiżowym czasopiśmie naukowym.

Uzyskane przez mgr inż. Damiana M. Janeckiego wyniki zostały doskonale skonfrontowane z danymi literaturowymi w bardzo dobrze napisanym rozdziale zatytułowanym Dyskusja. Doktorant udowodnił w tej części rozprawy, że nie tylko zna prace innych autorów poświęcone białkom PUMILIO, NANOS i SPIN, ale przede wszystkim potrafi krytycznie odnieść się do swoich własnych wyników badań. Dyskusja została przygotowana niezwykle profesjonalnie. Podoba mi się również zamieszczenie na końcu rozprawy krótkiego rozdziału Wnioski, w którym Doktorant trafnie podsumował uzyskane w trakcie realizacji doktoratu wyniki.



Przedstawione powyżej drobne uwagi krytyczne nie wpływają na moją bardzo wysoką ocenę rozprawy doktorskiej mgr inż. Damiana M. Janeckiego. Przedstawiono w niej szereg interesujących, nowych i ważnych dla nauki obserwacji. Uzyskane i opisane w pracy doktorskiej wyniki zostały rzeczowo przedyskutowane w oparciu o dobrą znajomość danych literaturowych, a zaproponowana w rozprawie interpretacja wykonanych eksperymentów nie budzi żadnych zastrzeżeń. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że część wyników przedstawionych w rozprawie doktorskiej mgr inż. Damiana M. Janeckiego została już opublikowana w czasopiśmie *Oncotarget*.

Uważam, że oceniana rozprawa w pełni spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim. Dlatego przedkładam Radzie Naukowej Instytutu Genetyki PAN w Poznaniu wniosek o dopuszczenie mgr inż. Damiana M. Janeckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Artur Jarmołowski