

Recenzja pracy doktorskiej mgr Dawida Dułaka, pt.

„Mechanizm transformacji amyloidowej bazujący na zmianie rozkładu hydrofobowości”

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Dawida Dułaka została przygotowana zgodnie z wytycznymi Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami (stary tryb).

Recenzji podjąłem się z przyjemnością, tematyka recenzowanej pracy stanowi bowiem przykład praktycznego wykorzystania możliwości oszałamiająco szybko zmieniających się technik i strategii numerycznych dedykowanych przewidywaniu (generowaniu) natywnych form i struktur upakowania przestrzennego łańcuchów białek (polipeptydów). Struktury te decydują o pełnieniu przez białka charakterystycznych dla nich ról biochemicznych. Pakiety programów numerycznych dostępne w sieci są coraz bardziej udanymi narzędziami do odtwarzania takich struktur przestrzennych niejako od podszewki, z pierwszych zasad. Narzędziami których eksploatację już w najbliższym czasie przejmie całkowicie Sztuczna Inteligencja, a projekty doktorskie jak ten recenzowany, odejdą do sztabucha szybciej niż to się nam wydaje (patrz ostatni akapit recenzji).

Recenzję piszę z perspektywy fizyka o doświadczeniu zarówno w zakresie fizyki liotropowych stanów ciekłokrystalicznych (np., micide, lamele), jak i w zakresie fizykochemii warstwy hydratacyjnej wody na szeroko pojmowanej powierzchni. Praca doktorska była trudna do zrecenzowania ze względu na wielo- i niejedno-znaczność tych samych terminów używanych w naukach matematyczno-fizycznych i biomedycznych, jak również form prezentacji i dyskusji wyników. Dlatego miałem do czynienia z dwoma przeciwne, kontrastującymi ze sobą, jak awers i rewers monety, aspektami recenzowanej pracy doktorskiej. Zacznę od strony ważniejszej – jasnej, którą stanowi sam pomysł tematyki badań i wyniki studiów numerycznych.

Świeżo powstały łańcuch polipeptydu początkowo ma formę swobodnie unoszącego się w roztworze kłęбка, po czym sukcesywnie ulega hierarchicznemu procesowi etapowego porządkowania struktury białka. Choć roztwór biologiczny w

którym unosi się łańcuch białka jest niezwykle złożoną zawiesiną różnych obiektów molekularnych, to jego podstawowym składnikiem jest woda. Nawet jeśli ilość tej wody wystarcza potencjalnie zaledwie na pokrycie wszystkich uczestników roztworu, gdzie się da, otoczką hydratacyjną (zaledwie kilku-molekularną na grubość), to ta ilość w pełni określa wpływ wody na fałdowanie i pakowanie białka do formy stabilnej w tych warunkach.

W dostępnych pakietach symulacyjnych udział określonej, niezbędnej dla kłębka ilości cząsteczek wody jest uwzględniany, jednak pociąga to za sobą krytyczne wymagania odnośnie czasu obliczeń i pamięci. Alternatywą obniżającą ekstremalność tych wymagań jest zastąpienie w symulacjach udziału cząsteczek wody pewnym efektywnym uśrednionym trójwymiarowym pseudopotencjałem dającym podobny efekt (*fuzzy oil drop* (FOD) model). Stąd eksploatowany intensywnie od dawna przez grupę prof. Ireny Roterman pomysł, aby przy modelowaniu numerycznym uwzględniać raczej istnienie dodatkowego, efektywnego 3D pola sił od wody hydratacyjnej wymuszającego skupianie się reszt hydrofobowych w centrum docelowej (natywnej) formy, aniżeli uwzględniania obecności indywidualnych cząsteczek wody. Pomysł ten zespół Prof. I. Roterman

z pozytywnymi rezultatami testował od lat na przypadkach typowych form globularnych białek, a wyniki z analizą sukcesywnie przedstawiał we wcześniejszych publikacjach.

Tym razem, aby sprawdzić fizykochemiczną uniwersalność modelu FOD, a jednocześnie poznać zasięg stosowalności takiego ilościowego przybliżenia porządkującego wpływu wody, skupiono się na patogennych amyloidach - grupie łańcuchów polipeptydowych znanych z tego, że w nietypowych warunkach fizjologicznych mogą tworzyć nieglobularne - charakterystyczne dla szeregu chorób (np., Alzheimer), formy fibrylarne. W dobie lawinowego rozwoju badań *in silico* wybrana tematyka badawcza projektu doktorskiego była więc ważna i atrakcyjna, zarówno z perspektywy czysto poznawczego, naukowego punktu widzenia, jak dla zrozumienia możliwych przyczyn i mechanizmu powstawania złogów amyloidowych.

Proces zwijania/pakowania się nowopowstałej nitki polipeptydowej jest etapowym procesem hierarchicznym, zawierającym etapy porządkowania struktury

białka, od pierwszorzędowej, poprzez drugorzędową, trzeciorzędową, aż po czwartorzędową. Na każdym etapie woda odgrywa swoją porządkującą -filową/-fobową rolę i taka była strategia badań numerycznych przyjęta przez Kandydata (i Promotorkę), który konsekwencje porównywał i analizował możliwości predykcyjne pakietów programów I-Tasser, Robetta, jak i następstw zastąpienia oddziaływań molekularnych na poziomie woda-reszta aminokwasowa-polipeptyd potencjałem FOD, na pięciu dostępnych w Protein Data Bank zidentyfikowanych i scharakteryzowanych łańcuchach polipeptydowych tworzących amyloidowe formy fibrylarne.

Dla każdego z tych łańcuchów Autor generował i analizował szereg alternatywnych stabilnych struktur, od fragmentów łańcucha począwszy, po formy czwartorzędowe. Zbiór opublikowanych prac dostarcza przekonujących mnie argumentów, że w każdym z badanych przypadków, powstawanie form fibrylarnych można tłumaczyć rezultatem zachwiania równowagi pomiędzy oddziaływaniami zewnętrznymi od wody, a wewnętrznymi w łańcuchu, albo między łańcuchami polipeptydowymi w strukturze czwartorzędowej. Konkretnie, słabnięciem, albo zmianą formy oddziaływań modelowanych przez FOD. Dodam, na skutek zmian parametrów fizjologicznych otoczenia (roztworu). Z mojego punktu widzenia, jest to najwartościowszym, wartym podkreślenia osiągnięciem tej pracy.

Drugą, szczególnie irytującą stroną, jest forma i poziom dydaktyczny przedstawionej rozprawy. Rozprawa doktorska w „starym trybie” powinna stanowić jasne kompendium referencyjne wiedzy dla niewtajemniczonych a nie jest. Esej naukowy, który ma pełnić rolę przewodnika po wynikach pracy Autora jest fatalny. Im krócej, tym precyzyjniejszym językiem powinien być napisany.

Modelowanie numeryczne jest próbą ujęcia zjawisk przyrodniczych w ramy matematycznie ścisłego opisu, a więc i języka. Niestety, praca napisana jest naukowo niestarannym żargonem, stanowiącym nonszalancką mieszankę języków nauk ścisłych, z jednej strony i przyrodniczych, z drugiej. Bez refleksji czy napisane zdania rzeczywiście oddają precyzyjnie to co autor ma na myśli. Nie wyobrażam sobie aby została w pełni świadomie napisana tak przez, było nie było, absolwenta studiów z fizyki.

Autor wydaje się nie rozumieć, że Rozprawa jest miejscem gdzie ma przekonać czytelnika, niekoniecznie wąskiego specjalistę, do swoich dokonań. Nonszalancki, toporny żargon, sprawia wrażenie pisania bez specjalnego przekonania, należytej staranności (np. interpunkcja, odnośniki, podpisy pod rysunkami, nienumerowanie wzorów matematycznych, gramatyka, ortografia), przywiązywania większej wagi do meritum przekazu (miejscami, ze względu na brak interpunkcji, tekst jest zupełnie nie zrozumiały). Taki sposób narracji budzi naprawdę podejrzenie, że Autor nie do końca jest sam przekonany o własnym dogłębnym rozumieniu zastosowanych w poszczególnych pakietach symulacyjnych algorytmów zwijania łańcucha. Miałem nieodparte wrażenie czytania zbioru mniej lub bardziej luźnych notatek w temacie, składających się na jakiś pobieźny, może nawet pierwszy szkic. Sprawia wrażenie notatek spisanych na potrzeby wewnętrznej dyskusji grupy badawczej, w której pracował, a nie dla szerokiej publiczności niekoniecznie znającej tematykę.

Mogę tylko podejrzewać, że jest to wynikiem skrótów, kalek myślowych, braku koncentracji i pośpiechu, który dla mnie ewidentnie towarzyszył pisaniu pracy. Autor zapomniał o odpowiedzialnej analizie merytorycznej każdego zdania, które napisał przed oddaniem całości do druku (to nie jest zadaniem ani promotora ani recenzentów, choć wielu współczesnych doktorantów tak uważa!). Taki stosunek Autora do pisemnego przekazu uderza w niego: dezawuuje poziom Jego wiedzy, obniża ocenę erudycji i zdolności komunikacyjnych.

Strona edytorska treści pracy to wyłączna domena Autora. To w tym elemencie pracy pokazuje On swoje zdolności edukacyjne/piarowskie. Tutaj jest ona słaba, na granicy lekceważenia potencjalnych czytelników. To jest antypromocja Autora jako edukatora.

Rozprawie szczególnie brak choćby minimalnego akapitu poświęconego algorytmom poszukiwania optymalnej konfiguracji łańcucha, charakteryzujących poszczególne pakiety numeryczne użyte w tej pracy, a to jest chyba najbardziej istotny element tego światowego wyścigu o doskonałość softwarową. Są widoczne różnice w uzyskanych wynikach, więc u diabła skąd one się biorą?

Również brak akapitu określającego jasno przyjętą przez Autora strategię badań *in silico*, co u niespecjalisty powoduje chaos poznawczy – po przeczytaniu ma

się potrzebę solidnego douczenia (co zrobiłem), a nie podzielenia dobrą nowiną wśród nieobecnych. O niskiej staranności w posługiwaniu się j. ojczystym (gramatyka, interpunkcja, itd.) już wspominałem.

Sprawę, tylko nieco ratują jasno napisane Dyskusja i Wnioski, gdzie ewidentnie widać ślady konsultacji z Promotorką.

Jest to praca doktorska, którą zaliczyłbym zachowując właściwe proporcje, do kategorii „technicznych”, pojawiającej się, np., w systemie duńskim, realizacja pewnego zlecenia naukowo-technicznego w ramach programu studiów doktoranckich zgodnego z Procesem Bolońskim. Należy pogratulować Kandydatowi (i Promotorce) solidnej pracy *in silico* wykonanej w ramach tych badań. Prezentowane wyniki pokazują, że mgr Dułak osiągnął wysoką biegłość metodyczną prowadzenia badań *in silico*. Choć forma literacka i graficzna prezentacji wyników w pracy doktorskiej woła o pomstę do nieba, to po przeczytaniu oryginalnych publikacji jest na tyle zrozumiała aby wnioskować o dopuszczenie Kandydata do publicznej obrony.

Konkludując, po lekturze pracy pana mgr. Dawida Dułaka stwierdzam, że Kandydat posiadał solidną biegłość warsztatową i doświadczenie w zakresie posługiwania się dostępnymi mu pakietami programów I-TASSER i Robetta, modelem FOD, natomiast sama praca doktorska uwidacznia niewątpliwe kłopoty komunikacyjne i dydaktyczne Kandydata. Trudno jednak winić Kandydata personalnie za tą słabość przy żenującym poziomie edukacji szkolnej, oraz obowiązującym systemie rekrutacji na studia akademickie w zakresie nauk ścisłych, który nie sprawdza i nie wymaga biegłości w posługiwaniu się językiem ojczystym. Po lekturze pracy doktorskiej Kandydata na pewno nie polecał bym Go do zatrudnienia jako nauczyciela akademickiego – przewiduję nieprzezwyciężalne kłopoty z działalnością na niwie dydaktycznej, czy też z przygotowywaniem przez Niego wniosków grantowych dających realne nadzieje na finansowanie.

Wniosek do Rady opieram zatem głównie na ocenie strony merytorycznej wyników działalności badawczej p. mgr Dułaka w zakresie projektu doktorskiego, uznaję to bowiem za kluczowe dla sprawy. W mojej opinii, całokształt działalności naukowo-badawczej mgr Dawida Dułaka spełnia ustawowe i zwyczajowe minimum oczekiwań stawiane pracom doktorskim. Przedstawiam niniejszym Radzie Wydziału

Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o dopuszczenie Go do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Grudzień 2020


Prof. dr hab. Józef K. Mościcki

Post Scriptum tej recenzji: Niniejszą pracę doktorską uważam pod pewnym względem za historyczną, bowiem symulacje fałdowań białek wykonywane przez algorytmy Sztucznej Inteligencji (SI) prawdopodobnie szybciej niż później całkowicie zmienią poziom i drogę bezpośredniego udziału człowieka w tym procesie, patrz CASP14, np., <https://deepmind.com/blog/article/alphafold-a-solution-to-a-50-year-old-grand-challenge-in-biology>. (Ilustracja: nałożenie rzeczywistej i wygenerowanej przez algorytm SI struktury łańcucha polipeptydowego). Niemniej, otwiera to chyba łatwiejszą drogę do poszukiwań przyczyn degeneracji form natywnych białek, jak, np., w niniejszej pracy.

