



ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk  
tel. 58 523 5124, fax 58 523 5012, email: adam.liwo@ug.edu.pl

Gdańsk, 31 lipca 2019

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
pana magistra Pawła Dąbrowskiego-Tumańskiego  
pt. „Knots, lassos, and links. Topological manifolds in biological objects”**

Białka są polimerami łańcuchowymi przyjmującymi na ogół dobrze określoną strukturę, tzw. strukturę natywną która odpowiada, zgodnie z hipotezą termodynamiczną Anfinsena, minimum energii swobodnej układu w warunkach fizjologicznych. Ze strukturą związane są różnorodne funkcje białek pełnione w żywych komórkach i całych organizmach: budulcowe, katalityczne, przekaźnikowe, immunologiczne, regulacyjne i magazynowe. W latach 90-tych XX wieku odkryto pierwsze struktury białek zawierające węzły, które wraz z innymi stowarzyszonymi elementami topologii białek: łańcuchami, lassami, przewleczkami i krzywymi  $\theta$  są ważnymi elementami struktury znaczącej części białek. Temu zagadnieniu jest poświęcona rozprawa doktorska mgra Pawła Dąbrowskiego-Tumańskiego, która została wykonana pod kierunkiem najlepszej polskiej specjalistki w tej dziedzinie - Pani dr hab. Joanny Sułkowskiej.

Główną część rozprawy stanowi 5 rozdziałów (łącznie 82 strony), z których każdy opisuje rozważane w niej zagadnienia oraz uzyskane wyniki, podsumowanie (łącznie 6 stron) oraz 4 dodatki (łącznie 8 stron). Każdy z tych 5 rozdziałów stanowi zamkniętą całość zawierającą wstęp literaturowy, cele oraz wyniki, opisane w kontekście prac wykonanych przez innych badaczy. Główna część jest poprzedzona streszczeniem w języku polskim oraz angielskim, wykazem publikacji Kandydata, na których oparta jest rozprawa (18 pozycji, oznaczonych i cytowanych w tekście jako D1-D18) oraz publikacji będących w fazie przygotowania (D19-D24) i podziękowaniami. 16 artykułów, na których opiera się rozprawa zostało opublikowanych w dobrych i bardzo dobrych czasopismach z listy ISI (*Polymers, Reactive & Functional Polymers, J. Phys. Cond. Matter, Bioinformatics, Sci. Rep., PLOS Comput. Biol., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., Nucl Acids Res.*), dwie zostały opublikowane w czasopiśmie *TASK Quart.*, wydawanym przez Centrum Informatyczne Trójmiejskiej Akademickiej Sieci Komputerowej, które ma zasięg międzynarodowy ale nie jest indeksowane w bazach WOS i Scopus. Na końcu tekstu rozprawy znajduje się spis literatury (łącznie 371 pozycji). Językiem rozprawy jest, oprócz streszczenia polskiego, język angielski. Zaletą takiego układu rozprawy jest jasny podział tekstu pod względem tematyki natomiast pewną wadą jest konieczność odfiltrowania tekstu opisującego dokonania Autora, który można zidentyfikować głównie po tym, że pojawiają się w nim odsyłacze D1-D24. Ponieważ dzieło Kandydata jest rozprawą doktorską, moim zdaniem tło badań pochodzące od innych autorów powinno być wyraźnie rozgraniczone od opisu jego prac.

Ponieważ praktycznie całość materiału rozprawy została już opublikowana a przez to poddana (z wynikiem pozytywnym) bardzo wnikliwej ocenie anonimowych recenzentów, moja rola jako recenzenta sprowadza się głównie do stwierdzenia, czy waga przeprowadzonych prac jest wystarczająca do nadania Kandydatowi stopnia doktora nauk przyrodniczych i ścisłych, co do czego nie mam zresztą żadnych wątpliwości. Tym niemniej mam parę uwag i pytań merytorycznych, o czym niżej.

W rozdziale 1 Kandydat definiuje i wprowadza metody klasyfikacji węzłów, łańcuchów, lass i krzywych  $\theta$ , wprowadza matematyczne metody ich klasyfikacji oraz opisuje stworzone w ramach rozprawy algorytmy matematycznej klasyfikacji lass, kategoryzacji łańcuchów, klasyfikacji topologii łańcuchów i zawężonych pętli obecnych w białkach a także identyfikacji tych elementów w strukturach białek. Wyniki badań składających się na tę część rozprawy zostały opublikowane w pracach D4, D6, D10, D11, D13, D16, D19 i D24. W rozdziale 2 Autor omawia statystykę węzłów, lass i krzywych  $\theta$  w białkach a także ich wpływ na miary kształtu białek: asferyczność i wrzecionowatość, zarówno na podstawie przeprowadzonych symulacji z użyciem prostych modeli polimerów jak i analizy struktur białek. Ta część rozprawy została opublikowana w pracy D1. Szczególnie zasługuje tutaj na uwagę obserwacja, że sferyczność pętli w prostych modelach polimerów maleje po przewleczeniu przez nie łańcucha wskutek utworzenia lassa (rys. 2.9) natomiast odwrotny efekt jest obserwowany w białkach zawierających motyw lassa, co jest opisane w rozdziale 3 (rys. 3.3). Kandydat w rozprawie nie wyjaśnia dlaczego tak się dzieje; mam nadzieję, że podejmie próbę wyjaśnienia tej różnicy na obronie rozprawy doktorskiej. Rozdział 3 jest poświęcony roli węzłów w biologicznych funkcjach białek. Materiał tej części rozprawy został opublikowany w pracach D3, D7, D11 i D14 oraz został zawarty w pracach D19 i D23, które są w przygotowaniu. Treścią rozdziału 4 jest problem zwijania białek zawierających węzły, które Kandydat badał metodą modelowania gruboziarnistego z użyciem modeli opartych na strukturze (inaczej modeli typu Go). Wyniki badań opisanych w tej części rozprawy zostały opublikowane w pracach D5, D8, D11, D12, D17 i D18 a także zawarte w będącej w przygotowaniu pracy D19. Rozdział 5 opisuje stworzone przez Autora lub rozwinięte z pierwotnych wersji bazy danych wraz z narzędziami do analizy: KnotProt, LassoProt i LinkProt oraz oprogramowanie: GapRepairer, PyLasso oraz PyLink (będący wtyczką do programu PyMol grafiki molekularnej), jak również pakiet Topology napisany w języku Python. Materiał tej części rozprawy został opublikowany w postaci prac D2, D3, D7 i D15. Rozdział 6 stanowi podsumowanie wyników rozprawy oraz przedstawia kierunki dalszych badań.

Najważniejsze osiągnięcia Kandydata można podsumować następująco:

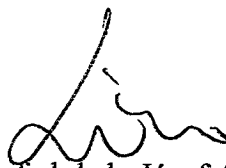
1. Odkrycie nieznanymi wcześniej zawężonych topologii białek: krzywych  $\theta$  oraz łańcuchów (dalej podzielonych na deterministyczne, probabilistyczne i makromolekularne), jak również stworzenie spójnej klasyfikacji zawężonych motywów w białkach.
2. Zaproponowanie nowego mechanizmu zwijania białek zawężonych poprzez tworzenie węzłów jednocześnie z syntezą białka na rybosomie. Taki mechanizm umożliwia tworzenie węzłów głębokich bez wysokich barier energii swobodnej.
3. Stworzenie wymienionych wyżej samouaktualniających się baz danych białek zawierających węzły, lassa, przewleczone i łańcuchy.

4. Stworzenie oprogramowania do analizy i modelowania skomplikowanych topologii białek, przy czym szczególnie użytecznym narzędziem, nie tylko do modelowania topologii jest aplikacja GapRepair, umożliwiająca dobudowę brakujących w strukturach eksperymentalnych pętli.

Z obowiązku recenzenta muszę przedstawić również uwagi krytyczne, które nasunęły mi się w toku lektury rozprawy.

1. W rozprawie pojawiają się odnośniki do prac D19-D24, które są w przygotowaniu, co nie powinno mieć miejsca. Materiał ten powinien być albo szczegółowo przedstawiony w rozprawie albo pominięty.
2. Wydaje się, że wykresy na panelach B i C rysunku 2.6. są obcięte. Zakres zmienności wirtualnego kąta dwuściennego wynosi  $2\pi$  a nie  $\pi$  podczas, gdy na rysunku rozciąga się on tylko od 0 do  $\pi$ . Z kolei zakres zmienności wirtualnego kąta płaskiego między atomami  $C^\alpha$  wynosi od 0 do  $\pi$ , tymczasem na rysunku kończy się na  $\pi/2$ . Poza tym wykresy rozkładu kątów są wyraźnie urwane, w przypadku kątów płaskich w maksimum przy ok.  $\pi/2$ . Być może chodzi jednak o inną definicję kątów. Prosiłbym Kandydata o wyjaśnienie.
3. W rozdziale 4 pola siłowe są omówione dość powierzchownie. Autor pisze co prawda o reprezentacji pełnoatomowej i gruboziarnistej układu i dość celnie, na przykładzie nieco rozmazanego obrazu Mony Lizy, przedstawia różnicę między nimi. Prawidłowo dzieli potencjały używane w modelowaniu gruboziarnistym na fizyczne, statystyczne i oparte o strukturę, jednak należałoby dodać potencjały niespecyficzne umożliwiające modelowanie najbardziej podstawowych właściwości układów (np. model HP Kena Dilla). Sam opis potencjałów pozostawia nieco do życzenia. Potencjały wiążące zobrazowane na rys. 4.5 nie zawsze wyglądają tak prosto w przypadku pól gruboziarnistych. Przykładowo, potencjał rozciągania wiązań jest często multimodalny co odpowiada różnym wewnętrznym stanom konformacyjnym centrum gruboziarnistego (np. scalonego łańcucha bocznego izoleucyny). Podobnie gruboziarniste potencjały kątów płaskich są często zależne od kątów torsyjnych, co zostało zauważone już przez Michaela Levitta w roku 1976. Nie jest też poprawne określenie potencjałów kątów torsyjnych mianem "dihedral angle bending"; tu nie ma miejsca zginanie. Z kolei gruboziarniste potencjały dalekozasięgowe nie składają się wyłącznie z potencjału Lennarda-Jonesa i pokrewnych i potencjału kulombowskiego. Brakuje też informacji o tym jak traktowany jest rozpuszczalnik w modelowaniu gruboziarnistym a tymczasem jest to kluczowe do uzyskania poprawnego opis modelowanych układów. Generalnie, potencjały gruboziarniste mają sens potencjałów średniej siły, które otrzymuje się po uśrednieniu energii potencjalnej względem stopni swobody zaniedbywanych po uproszczeniu reprezentacji układu, stąd ich znacznie bardziej skomplikowana forma (oraz teoria) niż w przypadku potencjałów pełnoatomowych. W rozdziale 4 Autor również nie podaje jednoznacznie, że w swoim modelowaniu używał potencjałów typu Go, jakkolwiek wynika to z kontekstu.
4. Na koniec drobna uwaga językowa. Autor często używa określenia "exemplary" w sensie "przykładowy". Tymczasem pierwsze użycie tego przymiotnika (np. wg. słownika Merriam Webster) należy tłumaczyć na język polski jako "wzorcowy" albo "coś tak niezwykłego, że może być podane za przykład". Użycie jego w sensie "przykładowy" może być źle zrozumiane przez czytelnika, którego pierwszym językiem jest język angielski.

Podsumowując, rozprawę doktorską p. mgra Pawła Dąbrowskiego-Tumańskiego uważam za wybitną. Autor stworzył zaawansowane narzędzia do identyfikacji złożonych topologii białek: węzłów, lass, łańcuchów i krzywych  $\theta$  oraz przeprowadził bardzo szerokie badania nad ich statystyką w naturalnych białkach i wpływem na zwijanie i stabilność oraz funkcje biologiczne białek. Bardzo ambitne cele rozprawy zostały w pełni zrealizowane a zakres zrealizowanych prac jest imponujący i wystarczyłby na znakomitą habilitację. Również imponująca jest liczba 18 publikacji (16 jeżeli wziąć pod uwagę jedynie te "impaktowane"; tak na marginesie, chyba tylko w polskich warunkach stosuje się rozróżnienie publikacji na "impaktowane" i "nieimpaktowane", ponieważ mój mistrz, prof. Harold Scheraga, w wykazie swojego dorobku umieszczał równorzędnie wszystkie łącznie z pracami opublikowanymi w materiałach zjazdowych). Takiej liczby publikacji można życzyć każdemu kandydatowi do stopnia doktora habilitowanego a nie tylko do stopnia doktora. Wymienione powyżej uwagi krytyczne nie umniejszają w żadnym stopniu jej wartości; już Rzymianie zwykli mawiać, że "errare humanum est". Rozprawa spełnia zawiązanie wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez **Ustawę z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki** (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.), jak również zwyczajowe standardy stawiane rozprawom doktorskim w dziedzinie nauk przyrodniczych i ścisłych. Dlatego z pełnym przekonaniem zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie p. mgra Pawła Dąbrowskiego-Tumańskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę wysoki ładunek nowości naukowej, ogrom i wysoki profesjonalizm wykonanej pracy, znakomitą jakość wyników oraz ich znaczenie dla rozwoju nauki wnoszę o wyróżnienie rozprawy. Szczegółowe uzasadnienie wniosku o wyróżnienie stanowi załącznik do niniejszej recenzji.



prof. dr hab. Józef Adam Liwo



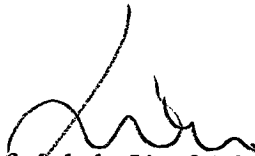
ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk  
tel. 58 523 5124, fax 58 523 5012, email: adam.liwo@ug.edu.pl

Gdańsk, 31 lipca 2019

**Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej  
pana magistra Pawła Dąbrowskiego-Tumańskiego  
pt. „Knots, lassos, and links. Topological manifolds in biological objects”**

W ramach swojej rozprawy doktorskiej Kandydat opracował i zaimplementował w postaci pakietów oprogramowania matematyczne metody identyfikacji skomplikowanych topologii białek: węzłów, łańcuchów, lass i krzywych  $\theta$ , przeprowadził analizę statystyczną tych topologii w białkach oraz przebadał ich wpływ na proces ich zwijania i ich funkcje biologiczne. Każda z wymienionych wyżej części jego pracy mogłaby stanowić bardzo dobrą rozprawę doktorską, zasługującą na wyróżnienie a całość rozprawy jest imponująca i wystarczyłaby na znakomitą habilitację. Należy podkreślić, że materiał rozprawy został opublikowany w postaci 18 publikacji, z czego 16 pojawiło się w czasopiśmie z listy ISI (w tym PNAS i NARC) a Kandydat jest pierwszym autorem 10 z nich. Jest to zdecydowanie najlepsza rozprawa doktorska, którą recenzowałem.

W świetle przedstawionych wywodów a także argumentów przytoczonych w mojej recenzji rozprawy doktorskiej p. mgr Pawła Dąbrowskiego-Tumańskiego, z pełnym przekonaniem wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o wyróżnienie jego rozprawy doktorskiej.

  
prof. dr hab. Józef Adam Liwo