

Warszawa, 30 sierpnia 2018

Prof. dr hab. Jacek Waniewski
Instytut Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN
Polska Akademia Nauk
Trojdena 4
02-109 Warszawa
jwaniewski@ibib.waw.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Marka Kochańczyka
"Kinetics of Biochemical Systems Analyzed by Numerical Methods"

Niniejsza recenzja została wykonana w związku z przewodem doktorskim mgr Marka Kochańczyka na podstawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Podstawowych Problemów Techniki PAN z dnia 24 maja 2018 roku powołującej mnie na recenzenta jego rozprawy doktorskiej. Recenzja została opracowana na podstawie dokumentów dostarczonych mi przez Sekretarza Rady dr hab. inż. Zbigniewa Ranachowskiego, profesora IPPT PAN, wraz z pismem z dnia 1 czerwca 2018 roku.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa mgr Marka Kochańczyka pod tytułem „Kinetics of Biochemical Systems Analyzed by Numerical Methods” ma formę cyklu siedmiu publikacji poprzedzonych spisem treści, abstraktami w językach angielskim i polskim, obszernym, liczącym 22 strony, ogólnym omówieniem w języku angielskim problematyki rozprawy oraz wyników przedstawionych w publikacjach, opisem struktury rozprawy i spisem artykułów doktoranta nie włączonych do rozprawy. Podstawową treścią rozprawy są teksty siedmiu współautorskich artykułów w języku angielskim opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym wraz z informacją o wkładzie poszczególnych autorów w przedstawione artykuły. Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. Tomasz Lipniacki.

Wszystkie artykuły rozprawy zostały opublikowane w czasopiśmie z listy A MNiSW z wysokimi współczynnikami wpływu (IF od 2,252 do 7,307) w latach 2013-17. Doktorant oznaczył te artykuły literami od A do G, więc będę używał w recenzji takich samych odsyłaczy:

- A. Kochańczyk M, Jaruszewicz J, Lipniacki T (2013) Stochastic transitions in a bistable reaction system on the membrane, *Journal of the Royal Society Interface* 10(84), 20130151
- B. Szymańska P, Kochańczyk M, Miększy J, Lipniacki T (2015) Effective reaction rates in diffusion-limited phosphorylation–dephosphorylation cycles, *Physical Review E* 91, 022702
- C. Nałęcz-Jawecki P, Szymańska P, Kochańczyk M, Miększy J, Lipniacki T (2015) Effective reaction rates for diffusion-limited reaction cycles, *Journal of Chemical Physics* 143(21), 215102

- D. Kochańczyk M, Hlavacek WS, Lipniacki T (2017) Spatkin: a simulator for rule-based modeling of biomolecular site dynamics on surfaces, *Bioinformatics* 33(22), 3667–3669
- E. Pękalski J, Zuk PJ, Kochańczyk M, Junkin M, Kellog R, Tay S, Lipniacki T (2013) Spontaneous NF- κ B activation by autocrine TNF α signaling: A computational analysis, *PLOS One* 8(11), e78887
- F. Hat B, Kochańczyk M, Bogdał M, Lipniacki T (2016) Feedbacks, bifurcations, and cell fate decision-making in the p53 system, *PLOS Computational Biology* 12(2), e1004787
- G. Kochańczyk M, Kocieniewski P, Kozłowska E, Jaruszewicz-Błońska J, Sparta B, Pargett M, Albeck JG, Hlavacek WS, Lipniacki T (2017) Relaxation oscillations and hierarchy of feedbacks in MAPK signaling, *Scientific Reports* 7, 38244

Oprócz tekstów publikacji, rozprawa zawiera również obszerne materiały pomocnicze do artykułów, dostępne jako załączniki on-line (artykuły A, D, E, F, G). Mgr Marek Kochończyk jest pierwszym autorem trzech artykułów (A, D, G) oraz współ-wiodącym z pierwszym autorem w dwu artykułach (B, F).

Tematyka rozprawy dobrze wpisuje się w szybko rozwijający się kierunek badań matematycznych i informatycznych mających na celu integrację i analizę lawinowo przyrastającej wiedzy na temat procesów przekazywania informacji w komórce biologicznej oraz stworzenie teoretycznych metod dostarczających interpretacji obserwowanych zjawisk i umożliwiających przewidywanie zachowania się układu w nowych warunkach. Badanie tych procesów musi uwzględnić wiele czynników istotnych w rzeczywistych komórkach, jak silnie nieliniowe procesy reakcji chemicznych z wieloma pętlami sprzężeń, stochastyczność procesów wynikająca z niewielkiej liczby cząsteczek, przestrzenny rozkład procesów, prowadzący między innymi do powstawania fal biegnących. Każdy z tych elementów sam w sobie może stać się w kontekście biologicznym poważnym problemem badawczym, każdy z nich wymaga innych metod matematycznych i informatycznych. Mgr Marek Kochończyk zgromadził w swojej rozprawie doktorskiej artykuły poświęcone problemom wymagającym uwzględnienia co najmniej dwu z tych czynników jednocześnie.

Część ogólna rozprawy została napisana przejrzysto i logicznie, a zmieszczenie tak dużej ilości materiału na niewielu stronach dokumentuje zdolność mgr Marka Kochończyka do formułowania opisów syntetycznych. Jednocześnie pokazuje ona szerokość zainteresowań badawczych i wiedzy Doktoranta, które wykraczają poza problemy czysto informatyczne. Rozdział pierwszy „Motivation” argumentuje za pożytkiem płynącym z wykorzystania metod matematycznych i komputerowych w badaniach procesów wewnątrzkomórkowych. Rozdział drugi „Background” omawia systemy, procesy i problemy związane z modelowanymi zjawiskami i wiąże dane biologiczne z koniecznymi do ich opisu metodami matematycznymi, wskazując w szczególności na istotną rolę takich cech procesów wewnątrzkomórkowych jak szum molekularny, struktura przestrzenna, kombinatoryczna złożoność sygnałów komórkowych (pochodząca np. z wielu stanów konformacyjnych lub potranslacyjnych cząsteczek sygnałowych) oraz nieliniowy charakter regulacji szybkości przebiegu procesów. Następnie autor formułuje w rozdziale „Objectives” cele swojej rozprawy. Jako cel ogólny (nazwany „założeniem”) podaje wykazanie użyteczności modeli matematycznych (z konieczności uproszczonych) w badaniach biochemicznych procesów komórkowych, a jako cele szczegółowe analizę pięciu problemów z tej dziedziny oraz opracowanie programu komputerowego pozwalającego na symulacje kinetycznej wersji metody Monte Carlo na dwuwymiarowej kracie z uwzględnieniem modelowania opartego na regułach; program ma

mieć charakter ogólny, umożliwiającą symulacje różnych układów i być wyposażony w narzędzia do wizualizacji wyników. W rozdziale czwartym „Methods” zostały krótko omówione metody matematyczne i komputerowe stosowane w przedstawionych artykułach: równania różniczkowe zwyczajne i cząstkowe (równania reakcji-dyfuzji), modelowanie stochastyczne łańcuchów Markowa z ciągłym czasem i dyskretnymi stanami, realizowane jako kinetyczne Monte Carlo w granicy dobrego wymieszania i kinetyczne Monte Carlo na kracie. Zostały także omówione narzędzia komputerowe wykorzystywane w pracach, jak BioNetGen, Matlab z modułem MatCont do analizy bifurkacji, Comsol Multiphysics oraz SpatKin do symulacji kinetycznych na dwuwymiarowej kracie, opracowany przez mgr Marka Kochańczyka. Na zakończenie wstępu, w rozdziale „Overview of results”, zostały omówione wyniki przedstawione w artykułach w układzie odpowiadającym sformułowanemu celom szczegółowym.

Tematyka przedstawionych artykułów jest zdecydowanie interdyscyplinarna lub wielodyscyplinowa: artykuły D i F ukazały się w czasopismach dotyczących biologii obliczeniowej (a więc związanych z metodami informatycznymi), trzy artykuły zostały opublikowane w czasopismach wielodyscyplinowych (A, E, G), artykuły B i C czasopismach fizycznych, publikujących również zastosowania w problemach biologicznych. Nieunikniona wieloautorstwo takich artykułów, wymagających, w tym konkretnym wypadku, znajomości procesów sygnałowych i stanowiących ich podłoże procesów biochemicznych, teorii równań różniczkowych z zaawansowaną teorią bifurkacji, teorii procesów stochastycznych, modelowania dyskretnego i metod informatycznych koniecznych do tworzenia nowych algorytmów i kodów komputerowych, lub efektywnego stosowania istniejących zaawansowanych narzędzi obliczeniowych. W tej sytuacji ważne jest wydzielenie roli doktoranta w zawartych w rozprawie badaniach, co można uzyskać na podstawie przejrzystych informacji o wkładzie poszczególnych autorów w artykuły składające się na rozprawę doktorską mgr Marka Kochańczyka.

Prace A, B, C i D, stanowiące w mojej opinii najistotniejszy wkład Doktoranta w informatykę, są związane z opracowanym przez niego i zaimplementowanym programem SpatKin do symulacji reakcji chemicznych z możliwością ich przestrzennego ruchu na dwuwymiarowej kracie, co może odpowiadać reakcjom na powierzchni błon biologicznych. Istotnym rozszerzeniem w stosunku do podobnych programów jest tu uwzględnienie explicite stanów wewnętrznych (np. potranslacyjnych) modelowanych cząsteczek chemicznych, których przemiany i wpływ na zachodzące reakcje jest zaprogramowany w postaci reguł algorytmicznych. Program jest opisany w artykule D wraz obszernym materiałem pomocniczym oraz udostępniony na stronie internetowej <http://pmbm.ippt.pan.pl/web/Spatkin> wraz z podręcznikiem użytkownika. Kod programu jest napisany w C++ i liczy 20 000 linijek. Program został opracowany, napisany, przeanalizowany pod kątem szybkości obliczeniowej, przetestowany i zoptymalizowany przez Doktoranta. Artykuły A, B i C zawierają analizy konkretnych problemów biochemicznych przeprowadzone przy wykorzystaniu wstępnych wersji programu, świetnie dokumentując użyteczność tego narzędzia: w pracy A badano reakcje jedno i dwustabilne, pokazano istotny wpływ obszarów ze spowolnioną dyfuzją na stochastyczną aktywację układów dwustabilnych. W pracach B i C prowadzono ciekawe badania nad związkiem makroskopowych parametrów układu (stałych szybkości reakcji) i procesami na poziomie mikroskopowym, a w szczególności szybkością dyfuzji cząsteczek. Dla reakcji typu fosforylacja – defosforylacja wykazano istotną, nieliniową zależność parametrów makroskopowych od szybkości dyfuzji i stężeń niektórych enzymów. W tych trzech artykułach mgr Marek Kochańczyk korzystał ze swojego symulatora (jeszcze bez nazwy) do przeprowadzenia masywnych symulacji komputerowych (w artykule C symulacje były prowadzone przez innych współautorów, co wskazuje na dobre opracowanie kodu programu jeszcze w tych wstępnych wersjach), brał udział w analizie wyników, przygotował

manuskrypt artykułu A i współ-napisał artykuł B. Mogę stwierdzić, że jego wkład w te artykuły wykracza poza prace o charakterze informatycznym i wskazuje również na dobre opanowanie zagadnień związanych z wewnątrzkomórkowymi procesami sygnałowymi.

Nieco inny charakter mają artykuły E, F i G poświęcone badaniom trzech konkretnych ścieżek sygnałowych przy wykorzystaniu rozbudowanych modeli kinetycznych z bogatą strukturą sprzężeń zwrotnych, opisanych równaniami różniczkowymi zwyczajnymi. W celu oceny wkładu zjawisk losowych badano również stochastyczne wersje zaproponowanych modeli podstawowych, a w przypadku artykułu G również wersję rozłożoną przestrzennie (równania reakcji-dyfuzji). We wszystkich trzech przypadkach mgr Marek Kochańczyk wykonał analizy bifurkacyjne modeli podstawowych, co pozwoliło na ustalenie możliwych typów zachowania się badanych układów i wykazało istnienie takich przejść jak bifurkacje Hopfa, bifurkacja siodło-węzeł, czy bifurkacja Neumarka-Sackera. Tego typu analizy, trudne do wykonania w przypadku skomplikowanych układów, mają kluczowe znaczenie dla interpretacji badanych zjawisk. W artykule F Doktorant przygotował kody i przeprowadził rozległe symulacje stochastycznej wersji badanego modelu (na gridzie komputerowym).

Na szczególną uwagę zasługuje artykuł G, w którym mgr Marek Kochańczyk jest pierwszym autorem, a w szczególności uczestniczył w powstaniu pomysłu tych badań, opracowaniu ich zakresu, interpretacji wyników, napisał artykuł, redagowany później przez współautorów, oraz przygotował kody i prowadził symulacje wersji stochastycznej i przestrzennie rozłożonej modelu, oprócz jak wspomniałem wcześniej jego analizy bifurkacyjnej. Uzyskane wyniki obliczeniowe pozwoliły na interpretację nowych danych eksperymentalnych za pomocą modelu matematycznego. Pokazano szczegółowo jak poszczególne pętle sprzężenia zwrotnego wpływają na zachowanie się ścieżki sygnałowej MAPK, opisanego w wersji podstawowej 23 równaniami różniczkowymi zwyczajnymi, a w szczególności na bistabilność i stabilne oscylacje układu. Zbadano wpływ czynników stochastycznych na obserwowane zjawiska oraz rozchodzenie się w komórce fali po punktowym wzbudzeniu układu. Mogę stwierdzić, że Doktorant wykazał w tym wypadku nie tylko swoje kompetencje informatyczne, ale również zdolność do podejmowania badań interdyscyplinarnych i umiejętność wnoszenia twórczego wkładu w takie badania.

Wkład mgr Marka Kochańczyka w przedstawione w rozprawie prace zespołowe jest znaczący; we wszystkich ma on charakter prac informatycznych związanych z opracowaniem nowych kodów obliczeniowych i prowadzeniem rozległych symulacji komputerowych, często w wersji obliczeń równoległych; artykuł D jest w całości poświęcony omówieniu oprogramowania napisanego i przetestowanego przez Doktoranta. Jest on również współ-pomysłodawcą oryginalnych badań merytorycznych w zakresie biologii obliczeniowej (artykuły A, F, G) autorem lub współautorem tekstu pięciu artykułów (A, B, D, F, G). Jego ważnym osiągnięciem jest opracowanie i napisanie części ogólnej rozprawy. Trzeba również zwrócić uwagę na szeroki zasięg problemów i metod matematycznych i numerycznych, które podejmował i twórczo stosował w swojej pracy badawczej. Uważam, że mgr Marek Kochańczyk przekonująco wykazał swoje zdolności do prowadzenia samodzielnej pracy badawczej.

Podsumowując moją opinię o rozprawie mgr Marka Kochańczyka stwierdzam, że spełnia ona warunki do nadania stopnia doktora w dyscyplinie Informatyka, określone w ustawie o stopniach i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 r. z późniejszymi zmianami, i stawiam wnioski o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na interdyscyplinarny charakter prowadzonych badań i znaczący wkład w ich planowanie i analizę uzyskanych wyników o znaczeniu biologicznym i matematycznym, wykraczających poza zakres przeprowadzonych przez niego prac informatycznych, stawiam

wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Marka Kochańczyka. Dodatkowym argumentem za wyróżnieniem tej rozprawy jest bogaty dorobek publikacyjny (18 artykułów w czasopismach z wysokim i bardzo wysokim IF) Doktoranta, poświęcony zarówno podobnym jak i odmiennym (badanie struktury białek) problemom, co zdecydowanie rozszerza jego wkład w biologię obliczeniową poza materiał przedstawiony w rozprawie.

J. Wroniewski

