

Recenzja rozprawy doktorskiej

Autor: mgr Paweł Nałęcz-Jawecki

Tytuł: Information transmission rate in biological signaling pathways

Promotor: prof. dr hab. Tomasz Lipniacki

Promotor pomocniczy: dr Marek Kochończyk

Ogólna charakterystyka rozprawy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska jest napisana w języku angielskim, liczy 170 stron. Praca bazuje na 3 oryginalnych, recenzowanych, wieloautorskich publikacjach naukowych, w których pierwszym autorem jest Doktorant:

Publikacja 1: Nałęcz-Jawecki, P., Gagliardi, P. A., Kochończyk, M., Dessauges, C., Pertz, O., & Lipniacki, T. (2023). The MAPK/ERK channel capacity exceeds 6 bit/hour. *PLoS computational biology*, 19(5), e1011155.

Publikacja 2: Nałęcz-Jawecki, P., Roth, L., Grabowski, F., Li, S., Kochończyk, M., Bugaj, L. J., & Lipniacki, T. (2025). Quantifying cancer-and drug-induced changes in Shannon information capacity of RTK signaling. *Scientific Reports*, 15(1), 39340.

Publikacja 3: Nałęcz-Jawecki, P., Szyc, P., Grabowski, F., Kochończyk, M., & Lipniacki, T. (2025). Information transmission in a cell monolayer: A numerical study. *PLOS Computational Biology*, 21(2), e1012846.

Początek pracy doktorskiej (do strony 38) jest omówieniem i streszczeniem wyników trzech wymienionych powyżej prac. W tej części dysertacji Doktorant wymienia także 7 innych, oryginalnych publikacji naukowych, których jest współautorem. W tej części tekstu

autor przedstawia także 3 tezy swojej dysertacji doktorskiej (stron 13), każda z tez odnosi się do jednej z publikacji 1-3 stanowiących bazę pracy.

Wszystkie publikacje, zarówno 1-3 jak też 7 dodatkowych publikacji zostało wydanych w bardzo wysoko notowanych czasopismach naukowych. W części pracy od strony 39 do strony 132 Doktorant zamieścił kopie publikacji 1-3. Wreszcie, od strony 133 do 170 Doktorant zamieścił oświadczenia współautorskie współautorów publikacji 1-3.

Publikacje 1-3 różnią się tematyką lecz mają wspólną oś, którą jest tytuł pracy, tzn. ocena tempa przesyłania informacji w biologicznych ścieżkach sygnałowych. Ponadto publikacja 3 odróżnia się od publikacji 1-2 tym, że w przeciwieństwie do tych dwóch publikacji nie bazuje na oryginalnych eksperymentach biologii molekularnej, lecz raczej wykorzystuje symulacje komputerowe. Publikacje 1 i 2 zostały zrealizowane we współpracy z doświadczalnikami, zawierają istotny komponent eksperymentalny *in vitro*, polegający na naświetleniu hodowli komórek impulsem światła i obserwowaniu odpowiedzi (zmodyfikowanej) ścieżki sygnałowej MAPK.

Omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy

Publikacja 1 bazuje na eksperymencie naświetlenia komórek MCF-10A (ludzkie komórki nabłonkowe gruczołu sutkowego) impulsami światła (100 ms, 470 nm, 3 W/cm²) i obserwacji ich odpowiedzi. Komórki eksperymentalne MCF-10A zostały zmodyfikowane genetycznie tak, aby były wrażliwe na pobudzenie impulsami światła oraz aby ich odpowiedź była sygnalizowana przez odpowiednie markery fluorescencyjne. Ten model eksperymentu posłużył do oceny przepustowości informacyjnej szlaku sygnalizacyjnego MAPK/ERK w badanych komórkach. Wartość przepustowości została oszacowana w bitach na godzinę jako należąca do przedziału 6-11 bitów na godzinę. Ta ocena została otrzymana z zastosowaniem algorytmu / metodologii opracowanej przez Doktoranta. Metodologia ma pewne analogie do oceny przepustowości w transmisji sygnałów przez neurony. Bazuje na zrozumieniu funkcjonowania oraz parametrów transmisji w szlaku MAPK/ERK. Doktorant zakłada, że (podobnie jak w neuronach) istotne są dwa parametry, okres refrakcji (oszacowany przez Doktoranta na 8-10 min.) oraz rozdzielczość czasowa (oszacowana na 1 min.). Na bazie tych oszacowań Doktorant projektuje sygnały wejściowe (przebiegi czasowe impulsów światła). Konstruuje i porównuje trzy różne postacie sygnałów wejściowych, sygnał impulsów pojawiających się w równomiernych odstępach zadanych przez czas refrakcji oraz dwa rodzaje sygnałów bazujących na zmiennej odległości pomiędzy impulsami światła, modelowanej przez rozkład geometryczny. Dwa ostatnie modele różnią się od siebie istnieniem lub brakiem dodatkowej przerwy czasowej pomiędzy impulsami. Dla założonych modeli Doktorant jest w stanie analitycznie wyznaczyć strumienie entropii wejściowej dla kanału. Następnie przepustowość transmisji szacuje uwzględniając utratę informacji wewnątrz kanału zadaną przez strumień entropii warunkowej pomiędzy sygnałem

wejściowym i wyjściowym. Ten ostatni strumień ocenia na bazie danych eksperymentalnych, wykorzystując dwa algorytmy. Pierwszy wykorzystuje rekonstrukcję sygnału wejściowego na bazie obserwowanego sygnału wyjściowego, z zastosowaniem klasyfikatora knn. Drugi wykorzystuje bezpośrednio zliczenia typów fragmentów trajektorii czasowych oraz także tablice odległości knn. Pierwszy algorytm jest autorską koncepcją Doktoranta, a drugi jak się wydaje został zasugerowany przez recenzenta publikacji 1.

W publikacji 2 badano przepustowość szlaku sygnałowego RTK/ERK (tego samego co w poprzedniej publikacji) w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC) zawierających onkogeną fuzję genów EML4-ALK oraz porównywano ją z przepustowością w komórkach nietransformowanych (BEAS-2B). Model eksperymentalny był podobny (taki sam) jak w poprzedniej publikacji 1. Przy zastosowaniu algorytmów oceny przepustowości kanału informacyjnego ustalono, że szybkość przepływu informacji poprzez szlak sygnałowy RTK/ERK w komórkach STE-1 wynosi $<0,5$ bitów na godzinę. w porównaniu z 7 bitami/godzinę w komórkach BEAS-2B. Zastosowanie inhibitora kinazy ALK (crizotinibu) poprawiło przepustowość szlaku sygnałowego RTK/ERK, do poziomu 3 bitów na godzinę (niższego niż w przypadku nierakowych komórek nabłonkowych BEAS-2B). W porównaniu z publikacją 1, w publikacji 2 zmodyfikowano algorytm oceny przepustowości kanału informacyjnego. Dla rekonstrukcji sygnału wejściowego stosuje się wielowarstwowy (trójwarstwowy) perceptron. Także, zamiast do oceny entropii warunkowej wykorzystywać macierz pomyłek klasyfikatora, ocenę opiera się na wielowymiarowym rozkładzie wynikającym z pomiarów / wartości w wielu momentach czasowych oraz na oszacowaniu entropii warunkowej przez entropię krzyżową.

Publikacja 3 różni się od publikacji 1 i 2 brakiem komponentu eksperymentalnego. Zamiast niego w publikacji 3 umieszczono wyniki szerokich eksperymentów obliczeniowych i symulacyjnych poświęconych badaniu scenariuszy przemieszczania się frontów aktywności komórkowej w modelach planarnych. Wykorzystywano algorytm symulacyjny Gillespiego w którym możliwe były przejścia pomiędzy stanami komórek, spoczynkowym, wzbudzonym, indukującym lub refrakcyjnym, dodatkowo zależne od relacji sąsiedztwa dla komórek. Dla propagacji informacji wzdłuż frontów aktywności komórkowej zastosowano wcześniej rozwijane metody oceny przepustowości w transmisji sygnałów przez kanały informacyjne. Oceniono, że dla parametrów charakterystycznych dla mechanochemicznych fal aktywności białka ERK, fronty aktywności mogą propagować się na odległość kilkuset komórek, przekazując maksymalnie około 0,5 bit/h. W symulacjach zaobserwowano różne scenariusze dynamiki przemieszczania się frontów aktywności komórkowej, m.in. stochastycznie zmieniającą się prędkość propagacji frontów, spontaniczne zanikanie frontów, gdy wszystkie komórki jednocześnie tracą aktywność, tworzenie (powstawanie) nowych frontów za propagującym się frontem. Zidentyfikowano, przez eksperymenty numeryczne warunki występowania różnych wariantów dynamiki i scenariuszy propagacji lub jej zanikania.

Ocena rozprawy

Praca zasługuje na bardzo pozytywną ocenę. Podstawowy fakt, który należy odnotować to, że praca Doktoranta jako ważnego współautora publikacji 1-3 przyczyniła się do istotnego posunięcia do przodu wiedzy na temat przesyłania informacji w biologicznych ścieżkach sygnałowych. Uzyskał wyniki dotyczące pojemności komórkowych kanałów informacyjnych biologicznej ścieżki sygnałowej MAPK/ERK, RTK/ERK, a także przepustowości przy propagacji informacji przy przemieszczaniu się frontów aktywności komórkowej. Było to możliwe dzięki interdyscyplinarnym projektom naukowym realizowanym przez zespoły badaczy, w których Doktorant brał istotny udział.

Obok wykonania eksperymentów biologii molekularnej konieczne było przeanalizowanie dużego wolumenu danych modeli matematycznych oraz opracowanie i wdrożenie oprogramowania. Aby oszacować pojemność kanałów informacyjnych biologicznych ścieżek sygnałowych Doktorant musiał wykazać się nie tylko wiedzą o ich funkcjonowaniu ale także zrozumieniem teorii informacji i opanowaniem algorytmów oceny pojemności kanałów informacyjnych. Doktorant uruchomił i przetestował kilka wersji algorytmu i uzyskał dość zbieżne wyniki, co pozwala na uznanie ocen za wiarygodne. Oszacowano przepustowość informacyjną biologicznej ścieżki sygnałowej MAPK/ERK, RTK/ERK, a także wpływ mutacji nowotworowej w tej ścieżce na utratę tej przepustowości. Uzyskane wyniki i oszacowania udaje się zinterpretować na gruncie biologii molekularnej. Scenariusze i wyniki prac badawczych w publikacji 3 także należy uznać za oryginalne i nowatorskie. Zaplanowanie i zrealizowanie obszernego projektu symulacyjnego pozwoliło na zaobserwowanie interesujących wzorców dynamiki propagacji frontów aktywności populacji oddziałujących na siebie komórek.

Publikacje naukowe 1-3 ukazały się w renomowanych czasopismach naukowych. Mimo, że ukazały się niedawno, były już kilkakrotnie cytowane. Prace są wieloautorskie, w każdej Doktorant jest pierwszym autorem. Na podstawie deklaracji współautorskich nie ma wątpliwości co do bardzo istotnego wkładu Doktoranta w powstanie publikacji oraz decydującego wkładu w aspekty modelowania matematycznego oraz zastosowanych technik obliczeniowych.

Praca dokumentuje wiedzę Doktoranta w zakresie informatyki i modelowania matematycznego, zrozumienie modeli stosowanych w teorii informacji i umiejętność powiązania tej wiedzy z modelami przesyłu informacji w biologicznych ścieżkach sygnałowych.

Tezy pracy są oryginalne i można uznać, że zostały w wystarczającym stopniu uzasadnione w przeprowadzonych badaniach.

Obok publikacji 1-2, Doktorant jest także współautorem 7 innych oryginalnych publikacji naukowych w bardzo renomowanych czasopismach naukowych.

Uwagi i pytania

W pracy przydałaby się tabela skrótów, lista oznaczeń.

Wzór (2) na stronie 19 jest błędny, brakuje minusa.

Wyniki w pracy stanowią dużą różnicę w stosunku do poprzednich oszacowań pojemności informacyjnej kanału ścieżki sygnałowej MAPK/ERK, uzyskanej w tej samej grupie badawczej, w artykule Grabowski, F., Czyż, P., Kochańczyk, M., & Lipniacki, T. (2019). Limits to the rate of information transmission through the MAPK pathway. *Journal of the Royal Society Interface*, 16(152), 20180792. Badania wsparte eksperymentem dają dość ostrą weryfikację wyniku bazującego jedynie na zaproponowanym modelu ścieżki sygnałowej. Co należałoby zmienić w modelu w pracy (Grabowski et al., 2019) aby zbliżyć jej wyniki do eksperymentu z publikacji 1?

W pracy stosuje się trzy metody oceny numerycznej pojemności informacyjnej kanału przesyłu informacji, rekonstrukcję sygnału wejściowego z zastosowaniem klasyfikatora knn, bezpośrednie zliczenia typów fragmentów trajektorii czasowych oraz ograniczenie entropii warunkowej przez entropię krzyżową. Czy te metody da się uszeregować ze względu na ich jakość?

Czy zastosowanie metody bazującej na ograniczeniu entropii warunkowej przez entropię krzyżową do publikacji 1 zmieniłoby jej wyniki?

Obserwacja przebiegów C i E na rysunku 2 w publikacji 1 nasuwa trochę wątpliwości co do interpretacji przez Doktoranta czasu refrakcji (czasu blokowania wrażliwości kanału na impuls wejściowy). Czy da się gdzieś zaobserwować na tych przebiegach „gubienie” impulsów, gdy są zbyt blisko siebie?

W pracy cytuje się (wspomina się) interesującą i często już cytowaną pracę przeglądową Tang, Y., & Hoffmann, A. (2022). Quantifying information of intracellular signaling: progress with machine learning. *Reports on Progress in Physics*, 85(8), 086602. W każdej z publikacji 1-3, ale zwłaszcza w omówieniu wyników publikacji 1-3 w dysertacji doktoranta, byłoby bardzo ciekawe umieszczenie stosowanych w niej metod na tle podejść omawianych w pracy Tanga i Hoffmana (2022).

Konkluzja

Uwagi krytyczne i dyskusyjne nie podważają ogólnej bardzo pozytywnej oceny pracy.

Praca stanowi podsumowanie oryginalnych, interdyscyplinarnych badań naukowych, w których sformułowano i weryfikowano oryginalne hipotezy badawcze. Dokumentuje wiedzę i kompetencje Doktoranta w obszarze informatyki, modelowania matematycznego oraz jego zdolności do udziału w interdyscyplinarnych projektach naukowych.

Najważniejszym aspektem oceny pracy jest uzyskanie w niej nowych wyników naukowych, które wnoszą duży postęp w badaniach nad przesyłem informacji w genetycznych ścieżkach sygnałowych oraz w systemach oddziałujących przez sąsiedztwo planarnych komórek.

Osiągnięcia i oryginalne elementy pracy są na pewno wystarczające do jej ogólnej bardzo pozytywnej oceny. Stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki stawiane pracom doktorskim i wnioskuję o jej dopuszczenie do publicznej obrony.

Ponadto, biorąc pod uwagę uzyskanie bardzo oryginalnych oraz nowatorskich wyników naukowych, bardzo szeroki zakres badań, bardzo wartościowe publikacje Doktoranta, zarówno wchodzące w skład dysertacji jak też inne, wnioskuję o wyróżnienie pracy.

