Prof. dr hab. ini. Piotr Formanowicz
Instytut Informatyki
Politechnika Poznańska
ul. Piotrowo 2,
60-965 Poznań

Poznań, 27 grudnia 2021 r.

RECENZJA osiągniecia naukowego pt. ,,Bioinformatyczna charakteryzacja i modelowanie amyloidów sygnałowych w układzie odpornościowym grzybów i bakterii wielokomórkowych " stanowiącego cykl publikacji oraz pozostałego dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr. inż. Witolda Dyrki

Niniejsza recenzja została przygotowana w odpowiedzi na Pismo RDIB-20/2021/2022 z dnia 28 października 2021 r. prof. dr. hab. ini. Marka Gzika, Przewodniczącego Rady Dyscypliny Inżynieria Biomedyczna Politechniki Śląskiej, w związku z powołaniem mnie przez Radę Doskonałości Naukowej na recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym dr. in2. Witolda Dyrki.

1. Opinia o osiągnięciu naukowym

Przedstawiony przez dr. ini. Witolda Dyrki cykl publikacji będący habilitacyjnym osiągnieciem naukowym zatytułowanym „Bioinformatyczna charakteryzacja i modelowanie amyloidów sygnałowych w układzie odpornościowym grzybów i bakterii wielokomórkowych" składa się z następujących siedmiu artykułów:

l. W. Dyrka, M. Lamacchia, P. Durrens, B. Kobe, A. Daskalov, M. Paoletti, D.J. Sherman, S.J. Saupe. Diversity and variability of NOD-Iike receptors in fungi. Genome Biology and Evolution 2014, 6, 3137 - 3158.

2. A. Daskalov, W. Dyrka, S.J. Saupe. Theme and variations: evolutionary diversification of the HET-s functional amyloid motif. Scientific Reports 2015, 5, 12494.

3. M. Lamacchia, W. Dyrka, A. Breton, S.J. Saupe, M. Paoletti. Overlapping Podospora anserina transcriptional responses to bacterial and fungal non self indicate a multilayered innate immune response. Frontiers in Microbiology 2016, 7, 471.

4. B.M. Konopka, M. Marciniak, W. Dyrka. Quantiprot - a Python package for quantitative analysis of protein sequences. BMC Bioinformatics 2017, 18, 339.

5. W. Dyrka, M. Pyzik, F. Coste, H. Talibart. Estimating probabilistic context-free grammars for proteins using contact map constraints. PeerJ 2019 7, e6559.

6. W. Dyrka, V. Coustou, A. Daskalov, A. Lends, T. Bardin, M. Berbon, B. Kauffmann, C. Blanchard, B. Salin, A. Loquet, S.J. Saupe. Identification ofNLR-associated amyloid signaling motifs in bacterial genomes. Journal ofMolecular Biolou 2020, 432, 6005 - 6027.
7. W. Dyrka, M. Gąsior-Głogowska, M. Szefczyk, N. Szulc. Searching for universal model of amyloid signaling motifs using probabilistic context-free grammars. BMC Bioinformatics 2021 22, 222.

Nauki biologiczne od kilku dekad rozwijają się bardzo dynamicznie, a wyniki uzyskiwane na ich gruncie, nieraz spektakularne, przyczyniają się do coraz lepszego zrozumienia zasad, na których opiera się funkcjonowanie świata ożywionego. Postęp ten możliwy jest m. in. dzięki rosnącym możliwościom pozyskiwania informacji biologicznych, zwłaszcza tych dotyczących sekwencji nukleotydowych oraz aminokwasowych. Jednak samo poznanie tego rodzaju sekwencji, choć niezwykle istotne, stanowi w wielu przypadkach dopiero punkt wyjściowy do dalszych badań. Zasadniczym problemem jest zrozumienie zapisanej w nich informacji i jej wpływu na budowę i funkcjonowanie organizmów.

Ze względu na złożoność tej informacji oraz wielkie ilości odczytanych dotąd i nadal odczytywanych sekwencji w praktyce bardzo trudna lub wręcz niemożliwa byłaby jej analiza bez zastosowania odpowiednich metod matematycznych oraz informatycznych. Było to jednym z głównych impulsów do rozwoju biologii obliczeniowej oraz bioinformatyki. Sekwencje nukleotydowe oraz aminokwasowe można postrzegać jako ciągi znaków, a zatem można je również analizować metodami stosowanymi na gruncie informatyki teoretycznej do analizy tekstów. Pamiętać jednak należy, iż sekwencje i inne obiekty biologiczne mają pewną specyfikę, która powoduje, że proste przeniesienie metod stosowanych w obszarze informatyki i nauk pokrewnych na grunt biologii nie zawsze jest możliwe lub może być nieefektywne. Istnieje zatem potrzeba dostosowania znanych lub opracowania nowych metod, uwzględniających wspomnianą specyfikę.

Jedną z grup metod, które można próbować zastosować do analizy sekwencji biologicznych stanowią metody lingwistyki formalnej. Na gruncie informatyki teoretycznej stanowią one grupę klasycznych metod analizy języków, zarówno naturalnych, jak i . sztucznych (np. języków programowania). Podejmowane są także próby stosowania tego rodzaju metod do analizy sekwencji biologicznych, nie jest to jednak zadanie łatwe.

W swojej pracy badawczej, która zaowocowała powstaniem przedstawionego cyklu publikacji, będącego habilitacyjnym osiągnięciem naukowym dr inż. Witold Dyrka stosuje metody bioinformatyczne, w tym oparte na gramatykach formalnych, do analizy amyloidów sygnałowych i białek NLR funkcjonujących w systemach immunologicznych grzybów oraz bakterii wielokomórkowych. Badania te oraz uzyskane wyniki są bardzo interesujące i ważne, gdyż do niedawna znana była rola białek NLR w systemach odpornościowych zwierząt i roślin, natomiast badania prowadzone przez Habilitanta przyczyniły się do poszerzenia wiedzy na temat ich roli w systemach immunologicznych grzybów, a także bakterii wielokomórkowych.

Jednym z celów, które przyświecały badaniom prowadzonym przez Habilitanta, a których wyniki zostały zamieszczone w przedstawionym cyklu publikacji, była analiza podobieństw budowy i funkcji białek NLR obecnych w organizmach zwierząt i roślin oraz tych obecnych w organizmach grzybów. Analiza ta była prowadzona pod kątem zbadania funkcji białek NLR w systemie immunologicznym grzybów. Doktor Dyrka badania w tym zakresie rozpoczął w trakcie odbywania dwuletniego stażu podoktorskiego w INRIA w latach 2012-2014. W ramach tego wątku badawczego

zajmował się on bioinformatyczną analizą sekwencji aminokwasowych pod kątem sprawdzenia, czy białka NLR oraz białka pokrewne do nich mogą pełnić w systemach odpornościowych grzybów funkcje związane z rozpoznawaniem obecności patogenów. Uzyskane wyniki potwierdziły hipotezę badawczą o takiej roli białek NLR w organizmach grzybów. Badania te były kontynuowane przez Habilitanta również w późniejszym okresie w związku ze wzrostem liczby dostępnych sekwencji. Otrzymane wyniki okazały się być zgodne z tymi uzyskanymi wcześniej.

W ramach opisywanego wątku badawczego Habilitant analizował również za pomocą metod bioinformatycznych ekspresję genów grzyba Podospora anserina w sytuacji wystąpienia niezgodności heterokariotycznej i obrony przed bakteriami Serratia. Otrzymane wyniki wskazują na to, że białka NLR aktywują zaprogramowaną śmierć komórkową, stanowiącą drugą linię obrony w ramach dwupoziomowego układu odpornościowego badanego grzyba.

Innym z celów badań prowadzonych przez dr. Dyrkę była identyfikacja oraz charakteryzacja, za pomocą metod bioinformatycznych, motywów amyloidów sygnałowych powiązanych z białkami NLR, a występujących w organizmach grzybów strzępkowych i w bakteriach agregujących. W ramach badań związanych z tym zagadnieniem Habilitant zajmował się analizą sekwencji amyloidów sygnałowych spokrewnionych z motywem HET-s. W tym przypadku analizie podlegała rodzina motywów określana jako HRAM. Zidentyfikowanych zostało 5 podklas motywów. Otrzymane wyniki wskazały, że najczęściej występujący motyw był w dużym stopniu podobny do znanych sekwencji HET-s. Uzyskano też m. in. wynik wskazujący na zgodność z jedyną zbadaną eksperymentalnie strukturą przestrzenną HET-s.

W ramach innego wątku badawczego związanego z analizą amyloidów sygnałowych zidentyfikowanych zostało ok. 700 sekwencji potencjalnych bakteryjnych amyloidów sygnałowych. Określonych zostało 10 grup bakteryjnych amyloidowych sekwencji sygnałowych (BASS) w organizmach bakterii agregujących i niektórych arecheonów. Wyniki dalszych badań sugerują wczesną ewolucyjnie rolę zarówno układu opartego o białka NLR, jak i sekwencji amyloidowych jako przekaźników sygnałów. Badania te są obecnie kontynuowane przez Habilitanta, a uzyskiwane wyniki wskazują m. in. na podobieństwo struktury przestrzennej motywów HET-s, motywów sigma i sekwencji BASS3 oraz ich zdolność do agregacji. Zaproponowany też został uogólniony model amyloidów sygnałowych.

Część spośród opisanych powyżej wyników otrzymana została za pomocą rozwijanych przez Habilitanta metod opartych na gramatykach formalnych. Rozwój tych metod stanowi istotny aspekt przedstawionego habilitacyjnego osiągnięcia naukowego. Metody tego typu są interesującą alternatywą dla powszechnie stosowanych metod opartych na dopasowaniu sekwencji. Metody rozwijane przez dr. Dyrkę i wykorzystane w badaniach, których wyniki opisane są w przedstawionym cyklu publikacji, bazują na probabilistycznych gramatykach bezkontekstowych. Zastosowanie ich do analizy sekwencji białkowych potencjalnie umożliwia znajdowanie motywów sekwencyjnych, które nie są efektem bezpośrednich zależności ewolucyjnych, co jest trudne (lub nawet niemożliwe) do uzyskania za pomocą metod opartych na dopasowaniu wielu sekwencji.

W ramach badań nad rozwojem algorytmów analizy sekwencji opartych na probabilistycznych gramatykach bezkontekstowych Habilitant pracował nad metodami automatycznego uczenia tego rodzaju gramatyk, zaproponował miary, które mogą być wykorzystane do oceny struktury drzewa parowania w kontekście przestrzennej struktury białka, a także zaproponował rozwiązanie problemu polegającego na tym, że w tworzonej gramatyce nie było bezpośredniej reprezentacji nielokalnych zależności między aminokwasami tworzącymi motyw. Ten

ostatni problem został •rozwiązany poprzez wprowadzenie reguł opisujących bezpośrednio kontakty między aminokwasami.

Ponadto, Habilitant pracował nad ograniczeniem przestrzeni rozwiązań przeglądanych w trakcie uczenia gramatyki. Zostało to osiągnięte przez wykorzystanie informacji o znanych kontaktach przestrzennych w sekwencji. Doprowadziło to Habilitanta do zaproponowania uogólnionego modelu uczenia gramatyk probabilistycznych, w którym uwzględnione są ograniczenia nałożone na strukturę drzew parowania. Opracowana metoda charakteryzuje się dużą zgodnością najbardziej prawdopodobnych drzew parowania ze strukturami przestrzennymi motywów.

Doktor Dyrka pracował również nad ograniczeniem liczby reguł, które należy uwzględnić w procesie uczenia gramatyk.

Warto dodać, że rozwijane przez Habilitanta metody oparte na probabilistycznych gramatykach bezkontekstowych zostały nie tylko wykorzystane do uzyskania omówionych wcześniej interesujących wyników biologicznych, ale zostały również udostępnione w postaci pakietów oprogramowania.

Podsumowując, należy zaznaczyć, że artykuły składające się na przedstawiony cykl publikacji zostały opublikowane w bardzo dobrych czasopismach z listy JCR, tj. Genome Biology and Evolution, Scientific Reports, Frontiers in Microbiology, BMC Bioinformatics, PeerJ oraz Journal of Molecular Biology. Uzyskane przez Habilitanta wyniki są interesujące z dwóch punktów widzenia, tj. biologicznego oraz informatyczno-matematycznego. Z biologicznego punktu widzenia najistotniejszy wydaje się być fakt, że badania prowadzone przez dr. Dyrkę przyczyniły się do wyjaśnienia, że mechanizmy systemu immunologicznego oparte na białkach NLR funkcjonują nie tylko w królestwach zwierząt i roślin, ale również w królestwie grzybów. Jest to bardzo ważny wniosek. Z informatycznego punktu widzenia natomiast duże znaczenie mają rozwijane przez Habilitanta metody analizy sekwencji biologicznych oparte na gramatykach formalnych. Podkreślić przy tym należy, że wiele spośród przedstawionych przez Habilitanta wyników biologicznych wyzyskanych zostało za pomocą zaproponowanych przez niego rozwiązań teoretycznych, co dowodzi ich skuteczności. Wszystko to sprawia, iż należy uznać, że dr inż. Witold Dyrka wniósł istotny wkład do dyscypliny inżynieria biomedyczna, a przedstawione przez niego habilitacyjne osiągnięcie naukowe spełnia wymagania określone w obowiązujących przepisach.

2. Opinia o dorobku naukowym, dydaktycznym oraz organizacyjnym

Badania prowadzone przez dr. inż. Witolda Dyrkę obecnie oraz w przeszłości dotyczą kilku grup zagadnień związanych z rozwojem i zastosowaniem metod bioinformatycznych, wśród których dominujące są te dotyczące wykorzystania języków formalnych do analizy sekwencji biologicznych. Ponadto, w obszarze zainteresowań naukowych Habilitanta znajdują się m. in. zagadnienia związane z badaniem kanałów jonowych, analizą obrazów guzów nowotworowych oraz analizą roli białek NLR i amyloidów sygnałowych w organizmach grzybów. Wyniki prowadzonych przez dr. Dyrkę badań opublikowane zostały m. in. w wysoko punktowanych czasopismach oraz prezentowane były na wielu konferencjach naukowych.

Całkowity dorobek naukowy Habilitanta obejmuje 13 artykułów opublikowanych w czasopismach z listy JCR, z czego 2 artykuły ukazały się przed obroną doktoratu, a 7 artykułów

wchodzi w skład naukowego osiągnięcia habilitacyjnego. Ponadto, w dorobku tym znajduje się 6 rozdziałów w monografiach naukowych, z czego 3 opublikowane przed obroną doktoratu. Wyniki swoich badań dr Dyrka prezentował 27 razy na konferencjach krajowych i międzynarodowych, w tym 13 razy przed obroną doktoratu.

Według bazy Web of Science publikacje Habilitanta cytowane były 169 razy, w tym 155 razy bez autocytowań, natomiast jego indeks Hirscha wg tej samej bazy wynosi 7. Sumaryczny Impact Factor jego publikacji wynosi 48,892 (w tym 6,818 dla publikacji, które ukazały się przed obroną doktoratu), a liczba punktów MNiSW (MEiN) wynosi 744 (w tym 94 punkty za publikacje, które ukazały się przed obroną doktoratu). Wiele spośród tych publikacji okazało się w bardzo dobrych czasopismach, takich jak: Journal of Computational Chemistry, BMC Bioinformatics, Genome Biology and Evolution, Scientific Reports, Frontiers in Microbiology, Medical Image Analysis, PeerJ, Journal of Molecular Biology.

Doktor Dyrka przed obroną doktoratu brał udział m. in. w realizacji jednego projektu badawczego finansowanego przez MNiSW, natomiast po obronie doktoratu uczestniczył w realizacji dwóch projektów badawczych finansowanych przez NCN, przy czym jednym z nich kierował oraz jednego projektu finansowanego przez Agence Nationale de la Recherche (Francja). Obecnie Habilitant bierze udział w realizacji projektu finansowanego przez NCN.

Dr inż. Witold Dyrka przed obroną doktoratu odbył roczne studia magisterskie w Kingston University (Londyn), natomiast po obronie doktoratu odbył dwa staże podoktorskie — pierwszy, dwuletni, w Inria Sud-Ouest Research Centre (Talence, Francja), a drugi, miesięczny, w Institut de Biochimie et Gćnćtique Cellulaires CNRS (Bordeaux, Francja).

Habilitant recenzował artykuły dla International Journal of Applied Mathematics and Computer Science, Medical Physics, Computational and Structural Biology Journal, Machine Learning, Scientific Reports oraz PLOS ONE. Był też recenzentem w organizowanych przez Polskie Towarzystwo Bioinformatyczne konkursach na najlepszą pracę magisterską oraz najlepszą pracę licencjacką i inżynierską. Ponadto, był on dwukrotnie członkiem komitetu programowego sympozjum organizowanego przez wspomniane towarzystwo, a także członkiem komitetów programowych dwóch konferencji międzynarodowych.

Doktor Dyrka bierze również udział w kształceniu studentów. Na Politechnice Wrocławskiej opracował i prowadził przedmioty Inteligencja obliczeniowa i jej zastosowania, Języki programowania do zastosowań biomedycznych, Wprowadzenie do programowania oraz Techniki programowania. Zmodernizował i prowadził zajęcia z przedmiotów Języki programowania oraz Informatyka. Ponadto prowadził zajęcia z przedmiotów Pakiety matematyczne, Systemy pomiarowo-diagnostyczne, Programowanie niskopoziomowe, Programowanie obiektowe C++, Modelowanie struktur i procesów biologicznych, Kurs programowania, Wstęp do informatyki i programowania, Technologia programowania oraz Wstęp do bioinformatyki. Prowadził także zajęcia w Kingston University z przedmiotów Databases, Bioinformatics, Information & communication technology basics oraz Instrumentation principles for media technology. Habilitant był też promotorem trzech prac magisterskich oraz opiekunem pomocniczym jednej pracy magisterskiej, a także promotorem 16 prac inżynierskich.

Podsumowując, uważam, że dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny dr inż. Witolda Dyrki spełnia wymagania stawiane przez obowiązujące przepisy osobom ubiegającym się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego i świadczy o jego sporej aktywności naukowej i dydaktycznej oraz organizacyjnej.

3. Wniosek końcowy

Uważam, że habilitacyjne osiągnięcie naukowe oraz dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny dr. inż. Witolda Dyrki spełniają wymagania dotyczące stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w obowiązujących przepisach. Wnioskuję zatem o dopuszczenie dr. inż. Witolda Dyrki do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Podpisał Piotr Formanowicz (podpis odręczny)