
dr hab. inż. Tomasz Żok, prof. PP
Politechnika Poznańska
Wydział Informatyki i Telekomunikacji
Instytut Informatyki
Poznań, 16 października 2025

Recenzja rozprawy doktorskiej

Doktorantka: mgr inż. Alicja Wojciechowska

Tytuł rozprawy: Obliczeniowe badania bakteryjnych amyloidów funkcjonalnych i ich interakcji z białkami ludzkimi (*Computational studies of bacterial functional amyloids and their human protein interactors*)

Promotor: prof. dr hab. inż. Małgorzata Kotulska

Jednostka: Politechnika Wrocławska, Katedra Inżynierii Biomedycznej

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska Pani Alicji Wojciechowskiej została mi powierzona na podstawie uchwały Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna w Politechnice Wrocławskiej z dnia 11 lipca 2025 roku.

1. Ogólna charakterystyka przedłożonej pracy

Rozprawa koncentruje się na amyloidach – nierozpuszczalnych agregatach białkowych o dominującej strukturze beta-kartki, które tworzą charakterystyczne włókna. Choć amyloidy są najlepiej znane z roli w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera i Parkinsona, rozprawa ta skupia się również na mniej zbadanych amyloidach funkcjonalnych, które pełnią istotne role biologiczne, na przykład wchodząc w skład strukturalnego fundamentu biofilmów bakteryjnych.

Badania przeprowadzono w celu weryfikacji czterech kluczowych hipotez:

1. Topologia sieci interakcji białko-białko (PPI – Protein-Protein Interaction) może dostarczyć nowy wgląd w mechanizm rozwoju chorób neurodegeneracyjnych.
2. Charakterystyka sekwencji powtórzeń tandemowych wpływa na skłonność białek do agregacji amyloidowej.
3. Model AlphaFold umożliwia skuteczne przewidywanie trójwymiarowej struktury białek amyloidowych.

-
4. Funkcjonalne amyloidy produkowane przez bakterie jelitowe człowieka mogą oddziaływać na procesy neurodegeneracyjne.

Rozprawa liczy 118 stron i ma spójną, logiczną strukturę. Składa się z następujących sekcji: wstęp, rozdział poświęcony analizie sieci PPI, rozdziały dotyczące analizy amyloidów w oparciu o sekwencję lub strukturę, rozdział dotyczący amyloidów w mikrobiomie, dyskusja, wnioski oraz bibliografia.

Cztery kluczowe rozdziały rozprawy stanowią podsumowanie prac opublikowanych w artykułach, które krótko streszczam poniżej. Należy zaznaczyć, że choć wszystkie te prace powstały w ciągu ostatnich trzech lat, zdążyły już zyskać rozpoznawalność i są cytowane od kilku do kilkunastu razy.

Nowakowska, A. W., & Kotulska, M. (2022). Topological analysis as a tool for detection of abnormalities in protein–protein interaction data. *Bioinformatics*, 38(16), 3968–3975. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac440>

W pracy tej (Rozdział 2 rozprawy) przedstawiono ramy metodologiczne służące do oceny sieci PPI. Głównym celem było opracowanie zestawu kluczowych metryk do identyfikacji i tagodzenia wpływu systematycznych błędów oraz artefaktów strukturalnych, które mogłyby zaburzać biologiczną interpretację analizowanego systemu.

Analiza wykazała, że zbiory danych PPI cechują się znaczną niejednorodnością. Zmienność ta wynika z kilku fundamentalnych problemów:

- Różnice w założeniach leżących u podstaw generowania danych.
- Agregowanie wyników z wielu różnych technik eksperymentalnych.
- Obecność rekordów dotyczących cząsteczek niebiałkowych lub taksonów innych niż ludzkie.
- Wysoka redundancja, gdzie około połowa wszystkich rekordów to duplikaty.
- Występowanie w grafie sieci niepołączonych ze sobą komponentów.

W celu systematycznej oceny jakości sieci zdefiniowano zestaw przydatnych miar topologicznych, obejmujący rozkład stopni, asortatywność, współczynniki klasteryzacji, odporność na symulowane losowe awarie oraz wskaźniki propagacji błędów.

Aby ułatwić innym badaczom przeprowadzanie analogicznych analiz, opracowano i udostępniono **ETNA** – przyjazne dla użytkownika narzędzie do kompleksowej, wielowymiarowej oceny jakości sieci. Narzędzie, dostępne także publicznie w środowisku **Google Colab**, pozwala na przeprowadzanie zaawansowanych symulacji i obliczeń metryk.

Nowakowska, A. W., Wojciechowski, J. W., Szulc, N., & Kotulska, M. (2023). The role of tandem repeats in bacterial functional amyloids. *Journal of Structural Biology*, 215(3), 108002.
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2023.108002>

W Rozdziale 3 przeprowadzono szczegółową analizę obliczeniową powtórzeń sekwencji w bakteryjnych amyloidach funkcjonalnych (BFA). Celem było zbadanie, czy powtórzenia te posiadają unikalne właściwości – takie jak liczba jednostek, stopień podobieństwa, profil aminokwasowy i preferencje strukturalne – które mogłyby przybliżyć zrozumienie procesu agregacji. Aby to zweryfikować, ich charakterystykę porównano z powtórzeniami występującymi w całym znanym proteomie bakteryjnym.

Analiza objęła 38 białek BFA, których wzajemne relacje zwizualizowano w postaci sieci opartej na odległościach w przestrzeni osadzeń wektorowych z modelu ProtBERT. Wykazano, że osadzenia te pozwalają na skuteczne odróżnienie BFA od pozostałych białek bakteryjnych, co potwierdza ich wyjątkowy charakter w tej przestrzeni cech.

Szczegółowa analiza powtórzeń w BFA ujawniła kilka znaczących różnic w stosunku do powtórzeń w pozostałych białkach bakteryjnych:

- Choć ogólna częstość powtórzeń w BFA jest porównywalna z innymi białkami, wykazują one znacząco odmienną liczbę powtarzających się jednostek.
- Powtórzenia w BFA cechują się niższą tożsamością sekwencji w porównaniu z powtórzeniami wśród wszystkich białek bakteryjnych.
- Rozkład częstości aminokwasów w powtórzeniach amyloidowych wyraźnie odbiega od tej obserwowanej we wszystkich pozostałych powtórzeniach bakteryjnych.
- Nieamyloidogenne fragmenty regionów powtarzalnych mogą wpływać na dynamikę procesu agregacji białkowej.

Wojciechowska, A. W., Wojciechowski, J. W., & Kotulska, M. (2024). Non-standard proteins in the lenses of AlphaFold3—Case study of amyloids. *bioRxiv*.
<https://doi.org/10.1101/2024.07.09.602655>

W Rozdziale 4 poddano ocenie zdolność pakietu AlphaFold3 do przewidywania struktur włókien amyloidowych. Aby uwzględnić stochastyczny charakter algorytmu, dla każdego badanego białka wygenerowano zbiór predykcji strukturalnych.

Wyniki wskazują na niską ogólną skuteczność AlphaFold3 w tym zadaniu – osiągnięty wynik F1 wyniósł zaledwie 0.44, przy 34% wyników prawdziwie pozytywnych i 45% prawdziwie negatywnych. Wykazano również, że na końcowy rezultat istotnie wpływa liczba kopii białka zastosowana w modelu.

Szczegółowa analiza ujawniła fundamentalną zależność między pewnością predykcji a jej zgodnością z istniejącymi danymi:

- AlphaFold3 potrafi generować polimery o topologii znacząco odbiegającej od znanych monomerów, jednak takie predykcje cechują się wyraźnie niższą pewnością (mierzona wskaźnikiem pLDDT).
- Odwrotnie, gdy model opiera się na szablonie struktury zdeponowanej w bazie PDB, pewność predykcji rośnie, ale kosztem zwiększonego prawdopodobieństwa uzyskania niepoprawnej, niefibrylarnej konformacji.

Te obserwacje zostały potwierdzone podczas testów na amyloidach o znanej eksperymentalnie strukturze. AlphaFold3 dostarczał w tych przypadkach niejednoznaczne wyniki: czasami poprawnie odtwarzał docelową architekturę włókna, a w innych zawodził, nawet pomimo dostępności odpowiedniego szablonu w bazie danych PDB.

Wojciechowska, A. W., Wojciechowski, J. W., Zielinska, K., Soeding, J., Kosciolek, T., & Kotulska, M. (2024). Aggregating gut: On the link between neurodegeneration and bacterial functional amyloids. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.11.26.624671>

W pracy tej (Rozdział 5) zbadano potencjalny związek między bakteryjnymi amyloidami funkcjonalnymi a neurodegeneracją. Na podstawie szczegółowej analizy obliczeniowej istniejących zbiorów danych opracowano atlas przewidywanych bakteryjnych amyloidów funkcjonalnych, wytwarzanych przez ludzki mikrobiom.

Kluczowym ustaleniem jest, że mikrobiom jelitowy pacjentów z chorobą Parkinsona jest wzbogacony w te właśnie białka amyloidowe. Analiza wykazała, że amyloidy te pochodzą od zróżnicowanych taksonomicznie bakterii, a ich homologi są szeroko rozpowszechnione w bazie danych UHGP. Zidentyfikowane bakteryjne amyloidy funkcjonalne są często zewnątrzkomórkowe i przewiduje się, że wchodzi w interakcje z ludzkimi białkami jelitowymi. Interakcje te mogą z kolei wpływać na fundamentalne procesy gospodarza, w tym na szlaki sygnałowe, transport komórkowy i odpowiedź immunologiczną.

2. Ocena merytoryczna rozprawy

2.1. Ocena prezentacji ogólnej wiedzy teoretycznej Doktorantki

Przedstawiona rozprawa doktorska ma wybitnie interdyscyplinarny charakter. Doktorantka wykazała się dogłębną wiedzą biologiczną, w unikatowy sposób łącząc kompetencje z biologii systemowej i strukturalnej. Ta rzadko spotykana kombinacja była kluczowa dla efektywnej realizacji celów badawczych i stanowi niewątpliwy atut Jej warsztatu naukowego.

Równie wysoki poziom wiedzy Doktorantka zaprezentowała w dziedzinie informatyki i przetwarzania danych, w tym w zakresie analizy grafów. Na szczególne uznanie zasługuje wzorowe zastosowanie metod statystycznych, obejmujące poprawne uwzględnienie niuansów – takich jak poprawki na otrzymane p -wartości przy wielokrotnych testach – niezbędnych dla rzetelnego wnioskowania.

Podsumowując, rozprawa dowodzi, że Doktorantka jest badaczką o wyjątkowo szerokich kompetencjach teoretycznych, w pełni przygotowaną do prowadzenia nowatorskich badań naukowych.

2.2. Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej

Rozprawa doktorska wyróżnia się zaawansowanym i interdyscyplinarnym warsztatem metodologicznym. Doktorantka z biegłością wykorzystuje zewnętrzne bazy danych i narzędzia bioinformatyczne o ugruntowanej pozycji do definiowania potoków przetwarzania danych, które są zgodne z najlepszymi praktykami stosowanymi przez społeczność naukową. Przyjęta metodologia badawcza jest solidna i starannie przemyślana.

W analizie topologicznej sieci PPI, Doktorantka trafnie wyselekcjonowała kluczowe cechy, a ich znaczenie potwierdziła poprzez dobrze zaprojektowane eksperymenty. W obszarze analizy sekwencji aminokwasów umiejętnie połączyła klasyczne podejścia, oparte na statystykach częstotliwościowych, z najnowszymi metodami, takimi jak osadzenia z modeli językowych (ProtBERT).

Szczególne uznanie budzą umiejętności w zakresie analizy strukturalnej. Doktorantka wykazała się znajomością najlepszych praktyk, co obejmuje:

- staranny dobór zbiorów danych,
- analizę zarówno mono-, jak i polimerów o zmiennej liczbie kopii,
- fachowe zastosowanie metryk przewidywanej jakości modelu (np. pLDDT) oraz podobieństwa struktur przy poszukiwaniu homologów (TM-score).

Analizy przedstawione w ostatnim rozdziale merytorycznym, dotyczące taksonomii oraz powiązań z bazą danych Gene Ontology, potwierdzają szerokie kompetencje Doktorantki w integrowaniu danych na poziomie systemowym.

Podsumowując, treść rozprawy jednoznacznie dowodzi, że Doktorantka opanowała rozbudowany warsztat metodologiczny. Co ważniejsze, posiada kluczową umiejętność trafnego doboru narzędzi do postawionego problemu badawczego. W rezultacie, wyciągane wnioski są logiczne i solidnie ugruntowane w materiale dowodowym.

2.3. Ocena oryginalności rozwiązania problemu naukowego

Przedstawione w rozprawie wyniki badań cechują się wysokim stopniem oryginalności i nowatorstwa. Po pierwsze, w odpowiedzi na dobrze znany problem zaszumienia danych w sieciach PPI, Doktorantka opracowała metody do szybkiej analizy i oczyszczania danych. Zasadniczą zaletą tego podejścia jest jego niezależność od zewnętrznych zasobów, co czyni je cennym i praktycznym narzędziem analitycznym.

Po drugie, przeprowadzona analiza sekwencyjna precyzyjnie ukazała zniuansowany wpływ liczby i sekwencji powtórzeń na proces agregacji amyloidów. Odkrycie tego mechanizmu otwiera nowe, obiecujące perspektywy dla projektowania interwencji wpływających na ten proces.

Po trzecie, Doktorantka przedstawiła nowatorskie badania nad systemem AlphaFold. Mimo ogromnej rozpoznawalności tego narzędzia – potwierdzonej dziesiątkami tysięcy cytowań i Nagrodą Nobla w 2024 roku – wykazała jego fundamentalne ograniczenie: niestandardowa struktura amyloidów jest niezgodna z jego zestawem danych uczących.

Za bardzo ważne należy także uznać wyniki, które – choć opublikowane na razie w formie pre-printu – wskazują na potencjalny mechanizm wpływu bakteryjnych amyloidów funkcjonalnych z ludzkiego jelita na agregację amyloidów związanych z chorobami neurodegeneracyjnymi. Tematyka ta wpisuje się w silny trend badawczy, jakim jest związek między mikrobiomem a patogenezą chorób neurodegeneracyjnych. Badania Doktorantki nie tylko podążają za tym trendem, ale również aktywnie go kształtują, otwierając nowe perspektywy badawcze.

Podsumowanie

Biorąc pod uwagę opinie zaprezentowane w poprzednich punktach i wymagania zdefiniowane przez art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (z późniejszymi zmianami) moja ocena rozprawy pod względem trzech podstawowych kryteriów jest następująca:

1. Czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w dyscyplinie Inżynieria biomedyczna?

☒ **Zdecydowanie TAK**

☐ Raczej TAK

-
- ☐ Trudno powiedzieć
 - ☐ Raczej NIE
 - ☐ Zdecydowanie NIE

2. Czy kandydatka posiada umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej?

- ☒ **Zdecydowanie TAK**
- ☐ Raczej TAK
- ☐ Trudno powiedzieć
- ☐ Raczej NIE
- ☐ Zdecydowanie NIE

3. Czy przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego?

- ☒ **Zdecydowanie TAK**
- ☐ Raczej TAK
- ☐ Trudno powiedzieć
- ☐ Raczej NIE
- ☐ Zdecydowanie NIE

3. Punkty do dyskusji

W pracy zauważyłem jedynie bardzo drobne błędy edytorskie, na przykład na stronie 89:

structure of fibrils of bacterial onal amyloids coilds can be predwithd ...

Błędy te w żaden sposób nie obniżają ogólnej, wysokiej wartości merytorycznej pracy. Zanotowałem natomiast kilka punktów do dyskusji.

1. W sekcji 2.3.2 czytamy:

The fundamental property that describes real networks is their scale freeness, which means that the degree distribution follows the powerlaw.

Proszę o wyjaśnienie podstawy stwierdzenia o bezskalości. Jakie zjawiska lub cechy rzeczywistych sieci prowadzą do uznania ich za bezskalowe?

Rozumowanie w rozprawie sugeruje, że dostępne sieci PPI nie spełniają tego założenia i wymagają modyfikacji. Czy dopuszczalne jest przyjęcie alternatywnego stanowiska, według którego dostępne sieci PPI wiernie odzwierciedlają rzeczywistość, a początkowe założenie o bezskalości powinno zostać odrzucone? Jeśli nie, proszę o uzasadnienie.

-
2. W sekcji 3.2 opisano redukcję wymiarowości osadzeń ProtBERT za pomocą analizy głównych składowych (PCA). Modele BERT, w tym ProtBERT, są trenowane tak, aby optymalnie wykorzystywać dostępne wymiary, co sugeruje, że ich wymiary są w pewnym stopniu niezależne. Oznacza to, że pełny wektor osadzeń jest zazwyczaj lepszym wyborem, ponieważ w tym kontekście PCA nie oferuje typowych korzyści (np. pozbywania się korelacji cech).

W związku z tym pojawia się pytanie – co skłoniło do użycia PCA? Czy konieczność redukcji wymiarowości wynikała z ograniczeń obliczeniowych, takich jak czas procesora lub dostępna pamięć RAM, które uniemożliwiały obliczanie odległości między 1024-elementowymi wektorami? Jeśli tak, czy chociaż przeprowadzono eksperymenty na małym podzbiorze, które oceniłyby nieunikniony błąd wprowadzany przez użycie 4 wymiarów zamiast 1024?

3. W rozprawie wspomniano, że każdy model przewidziany przez AlphaFold został wizualnie oceniony pod kątem podobieństwa do amyloidu. Biorąc pod uwagę dużą liczbę modeli poddanych tej inspekcji, można przypuszczać, że proces decyzyjny był szybki. To z kolei sugeruje, że wykrycie, czy model struktury 3D jest amyloidem, mogłoby zostać zautomatyzowane za pomocą modelu uczenia maszynowego, być może nawet niezbyt skomplikowanego.

Czy Doktorantka zgadza się z możliwością stworzenia takiego modelu? Jeśli tak, byłbym również zainteresowany ogólnym, wstępnym zarysem jego działania, tzn. jakie wizualne cechy umożliwiały ocenę, czy model 3D jest amyloidem, oraz jak te cechy wizualne można by przełożyć na mierzalne parametry. Chyba, że Doktorantka miałaby wizję systemu uczenia głębokiego, który samodzielnie odkryłby cechy przestrzenne świadczące o podobieństwie do amyloidu. Czy są przesłanki za lub przeciw takiemu modelowi?

4. Konkluzja i wniosek końcowy

Podsumowując, recenzowana rozprawa doktorska Pani Alicji Wojciechowskiej pt. “Obliczeniowe badania bakteryjnych amyloidów funkcjonalnych i ich interakcji z białkami ludzkimi” stanowi dojrzałe i wartościowe dzieło naukowe. Praca wnosi istotny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna.

Biorąc pod uwagę powyższą analizę, stwierdzam, że rozprawa doktorska **spełnia** wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.).

W związku z powyższym wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Inżynieria Biomedyczna w Politechnice Wrocławskiej o **dopuszczenie** Pani Alicji Wojciechowskiej do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Wniosek o wyróżnienie

Recenzowana rozprawa doktorska cechuje się wybitnym poziomem merytorycznym, szerokim i interdyscyplinarnym zakresem oraz oryginalnością uzyskanych wyników. W świetle tych niekwestionowanych walorów, z pełnym przekonaniem **wnoszę o jej wyróżnienie**.

Z wyrazami szacunku

Tomasz Żółc

dr hab. inż. Tomasz Żółc, prof. PP