

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Radosta Waszkiewicza

“Hydrodynamic techniques in the study of elastic macromolecules”

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska obejmuje zagadnienia związane z opisem teoretycznym oraz modelowaniem zagadnień transportu, w tym dyfuzji cząsteczek elastycznych (makromolekuł), włączając w to obiekty takie jak model nici DNA oraz białek nieustrukturyzowanych.

Praca ma formę zszywki tematycznie powiązanych prac naukowych wraz z dodatkowym, wprowadzającym wstępem. Cztery z prac są na dzień dzisiejszy opublikowane. Trzy z nich opublikowane zostały w czasopismach o wskaźnikach IF=2.7 (Journal of Physics: Condensed Matter), 3.7 (Journal of Fluid Mechanics) oraz wyjątkowo wysokim IF=14.9 (Nucleic Acids Research). Kolejna, czwarta publikacja, to publikacja kodu (SciPost Physics Codebases). Dwie ostatnie wysłane zostały do czasopism: Journal of Physical Chemistry Letters oraz Physical Review E i są najprawdopodobniej nadal w recenzjach (stan na dzień dzisiejszy).

Wstęp do zbioru publikacji obejmuje ok. 18 stron opisu teoretycznego związanego z podejmowanymi zagadnieniami. Rozpoczyna się on nietypowo, bo brakuje osadzenia badań w jakimś szerszym kontekście, zdefiniowania problemu transportu molekuł makroskopowych i roli tego zjawiska w przyrodzie. Mamy tu za to wprowadzenie równań Naviera-Stokesa oraz uzasadnienie do stosowania przybliżenia Stokesa dla przepływu płynu wokół makromolekuł, które stosowane jest dalej w rozprawie. Z jednej strony rozumiem, że praca wymaga tych uproszczeń, po co jest to przybliżenie i dlaczego autor od niego zaczyna, z drugiej – w tak wyjątkowo bogatej i ciekawej tematyce warto byłoby na wstępie wspomnieć o motywacji prowadzenia badań, samym zagadnieniu transportu molekuł, jego potencjalnych aplikacjach oraz związanych z nimi szczegółowych zainteresowaniach doktoranta. Co, oprócz oczywistego zainteresowania współpracą i wskazówkami opiekuna naukowego, fascynuje dyplomanta w badaniach deformowanych molekuł? Czy planuje w przyszłości podjąć inne problemy związane z tym zagadnieniem? Jakie fundamentalne pytania zadaje na samym początku swoich badań?

W pierwszym równaniu 1.1 Autor używa greckiej litery  $\eta$  (eta) do oznaczenia lepkości nie definiując, czy chodzi o lepkość dynamiczną czy kinematyczną (z postaci równań Naviera-Stokesa wynika, że jest to lepkość dynamiczna). W dalszej części powstaje pytanie - przy jakich założeniach dotyczących przepływu da się wyprowadzić przybliżenie (1.3), w którym stosunek członu adwekcyjnego do członu lepkościowego z równań Naviera-Stokesa jest przybliżony przez znane równanie na liczbę Reynoldsa zawierające prędkość, lepkość i długość charakterystyczną? Autor po raz pierwszy wspomina też tu (i potem powtarza to w pracy) o tzw. cichym płynie “quiescent fluid” bez jego zdefiniowania. Czy chodzi o założenie, że płyn jest w tzw. stanie stacjonarnym i rozwiązanie nie zmienia się w czasie? Czy chodzi o niską liczbę Reynoldsa?

Po wprowadzeniu liniowych równań Stokesa i określeniu skal czasowych dla transportu mikroskopowych cząsteczek dyplomant wprowadzamacierz mobilności i przybliżenie Rotne-Pragnera dla dyfuzji cząsteczek zanurzonych w przepływie w niskich liczbach Reynoldsa. Macierz mobilności i ww przybliżenie jest zaimplementowane w pakiecie oprogramowania **pygrpy** jest implementacją w Pythonie oryginalnego kodu w Fortranie90 (<https://github.com/pjzuc/GRPY>).

W dalszej części doktorant wprowadza wyrażenie na współczynnik dyfuzji (wzór Stokesa-Einsteina) dla sferycznej cząsteczki. W tym rozdziale doktorant dość odważnie przechodzi od ww równania do problemu opisu stochastycznego spaceru losowego, równania Blacka-Scholesa-Mertona i jego wpływu na kryzys finansowy w 2008 roku. Dodam, że zajrzałem do pracy [21] i nie znalazłem tam nic o ww modelu – rozumiem, że ta praca zacytowana została w kontekście kryzysu w ogóle.

Dalej doktorant wprowadza równanie Langevina (1.19) na prędkość cząsteczki zanurzonej w płynie w obecności fluktuacji sił. Autor stwierdza dalej, że przedstawione przybliżone rozwiązanie pracuje dobrze jedynie dla oleku sferycznych, a dla elastycznych molekuł o zmiennym kształcie potrzebna jest inna metoda (wprowadzona później), aby efektywnie wyznaczyć współczynnik dyfuzji. Po heurystycznym wyprowadzeniu równania (1.24) proces dyfuzyjny przedstawiony jest jako stochastyczny proces Wienera.

Koncepcja promienia hydrodynamicznego wprowadzona jest w rozdziale 1.4 (r-nie 1.36) przez zamianę współczynnika dyfuzji z promieniem dyfundującej cząsteczki w równaniu Einsteina-Stokesa. Tu procedura pomiaru współczynnika dyfuzji bazuje na bezpośredniej analizie trajektorii cząsteczki z uwzględnieniem zmian punktu śledzonego w molekuł tak, aby zminimalizować efektywny współczynnik dyfuzji.

Efektywny promień hydrodynamiczny dla molekuł elastycznych jest omawiany w rozdziale 1.5. Autor wspomina najpierw o wyrażeniach potęgowych dla  $N$  elementowego łańcucha. W tabeli 1.1 zebrane są wybrane właściwości dwóch typów układów analizowanych w pracy – łańcuchów DNA oraz łańcuchów białkowych, które wskazują na możliwe źródła różnic w szacowanych promieniach hydrodynamicznych. Autor podnosi tu problem braku danych eksperymentalnych dla tego typu danych oraz istotę wykorzystania, jak je nazywa – modeli teoretycznych opartych o podstawowe zasady (ang. first-principles theoretical models), które opisuje w rozdziale 1.6. Mowa jest tu o modelach atomowych oraz tzw. gruboziarnistych. Te pierwsze, pomimo że fizycznie wydają się najbardziej w duchu zasad podstawowych – wskazane są przez autora jako niepraktyczne (głównie ze względu na niezbędną, niedostępną, moc obliczeniową). Jest to dla mnie bardzo interesujący temat. Czy doktorant mógłby rozwinąć tę myśl i oszacować pamięć oraz moc obliczeniową potrzebną do tego, aby zasymulować pętlę DNA za pomocą np. dynamiki molekularnej molekuł zanurzonych w płynie? Podejrzewam, że to może być ogromna liczba dla interesujących skal czasowych, ale dałoby to nam jakiś szacunek „gdzie jesteśmy”. Warto byłoby takie szacowanie odnieść do aktualnie istniejących i dostępnych mocy obliczeniowych. Drugie podejście zakłada opis na wyższym poziomie abstrakcji cząsteczek (struktura DNA). Autor wspomina tu swój, opublikowany po publikacji artykułu, pakiet pychastic, który pozwala zbadać wpływ fluktuacji termicznych na dyfuzję złożonych molekuł DNA o kształcie pętli. W dalszej części omawiany jest drugi typ molekuł – białek nieuporządkowanych (IDP). Tu wsparciem dla doktoranta okazała się współpraca z Instytutem Fizyki PAN z Warszawy oraz Baylor College of Medicine (USA), które przeprowadzały eksperymenty nad tymi układami.

W dalszej części doktorant opisuje techniki eksperymentalne AUC oraz FCS – obie metody są optyczne i pozwalają na badanie różnych właściwości cząsteczek zanurzonych w buforze. W tym

kontekście autor wprowadza pomiar współczynnika dyfuzji  $D$ . Dodatkowo omówiona jest tu metoda bazująca na rozpraszaniu promieni  $X$  na cząsteczkach (1.7.3).

Na końcu wstępu teoretycznego zebrane i opisane zostały pakiety oprogramowania stworzone w ramach wykonywania pracy naukowej przez doktoranta. Wszystkie są ogólnodostępne i otwarte na platformie GitHub. Opublikowanie ww kodów oceniam bardzo dobrze, po pierwsze opublikowane kody mogą posłużyć do powtórzenia wyników z prac naukowych doktoranta, mogą być użyteczne w pracach innych autorów, ale też mogą po prostu przysporzyć popularności pracom doktoranta.

Na stronie 20 rozprawy dyplomant podsumowuje główne wyniki swojej rozprawy wskazując sześć napisanych prac naukowych, z których cztery zostały już opublikowane. Oprócz ogólnego opisu zawartości publikacji (bez wykazania w tej części wyrażnie wkładu doktoranta) jest tu też opisany krótko główny cel rozprawy, który sprowadzony został do dwóch osobnych zadań: odpowiedzi na zapotrzebowanie grup eksperymentalnych, z którymi współpracował doktorant (bez szczegółów), stworzenie modeli bez wyraźnych założeń ('null-hypothesis' models), które zawierałyby jedynie niezbędne, podstawowe oddziaływania dyfundujących cząsteczek. Autor twierdzi, że odchylenia wyników tego typu modeli mogłyby wskazywać na możliwość eksperymentalnej obserwacji nowych zjawisk fizycznych. To ciekawe i daleko idące stwierdzenie rozumiem jako hipotezę badawczą. Byłbym wdzięczny za odniesienie się do tego przez doktoranta i podsumowanie - jakie wyniki i odchylenia od eksperymentu zostały dzięki tym modelom zaobserwowane, jakie dalsze hipotezy mogą zostać postawione i jaki ogólnie wynik swoich badań (albo obserwacji na podstawie swoich modeli teoretycznych) doktorant uznaje za najważniejszy?

W dalszej części złączonych jest sześć wymienionych wyżej publikacji.

1. Waszkiewicz, Radost, and Maciej Lisicki. "Hydrodynamic effects in the capture of rod-like molecules by a nanopore." *Journal of Physics: Condensed Matter* 33.10 (2020): 104005

Pierwsza praca dotyczy efektów hydrodynamicznych związanych z wyłapywaniem molekuł typu wydłużonego (ang. rod-like) przez pory wielkości nanometrów (stąd proces ten związany jest z transportem molekuł np. DNA i RNA). Główna teza pracy dotyczy uwzględnienia efektów hydrodynamicznych przy oddziaływaniu molekuł ze ścianą porów. Używany jest tu model gruboziarnisty molekuły, która traktowana jest jak ciało sztywne. Przeprowadzona jest analiza skalowania z użyciem macierzy mobilności w celu wyróżnienia dominujących sił w procesie transportu. Autorzy pracy pokazują m.in., że w warunkach i dla cząsteczek wydłużonych, badanych w pracy, ruchy Browna mogą być zaniedbane w pobliżu ścian, gdzie dominują oddziaływania elektrostatyczne. Wyróżniony jest tu też wkład doktoranta: współpraca przy analizie skalowania i opisu teoretycznego, implementacja korekty związanej z oddziaływaniem molekuły z brzegiem, wykonanie pomiarów numerycznych i wizualizacji, współpracę przy analizie wyników, przygotowanie wszystkich rysunków oraz napisanie pierwszej wersji manuskryptu oraz edycję wszystkich jego kolejnych wersji. Doktorant jest pierwszym z dwóch autorów publikacji (drugim jest jego promotor). Wkład doktoranta oceniam zatem na wiodący (praca nie powstałaby bez jego udziału).

2. Waszkiewicz, Radost, Piotr Szymczak, and Maciej Lisicki. "Stability of sedimenting flexible loops." *Journal of Fluid Mechanics* 919 (2021): A14.

Druga z ujętych w rozprawie prac zajmuje się zjawiskiem osadzania deformowalnej pętli i zjawiska wyboczenia (ang. buckling) związanego z występowaniem dużych gradientów sił wywieranych na molekułę w związku z jej deformacjami. W pracy zbadany został wpływ efektów hydrodynamicznych na złożoną dynamikę badanych obiektów. Wykonana została liniowa analiza stabilności, a ewolucja opadających pętli (tak w nazwie zostały tu molekuły o kształcie pętli) została wyznaczona numerycznie i analitycznie. Wkład doktoranta w tę pracę obejmował współpracę przy opisie teoretycznym, przeprowadzenie analizy stabilności ewolucji kształtu pętli, wyznaczenie numeryczne kryterium stabilności metodą macierzową, wygenerowanie wyników numerycznych i wizualizacji, przygotowanie rysunków, oraz, napisanie pierwszej wersji oraz edycję wszystkich kolejnych wersji manuskryptu. Po raz kolejny doktorant jest tu zatem wiodącym (w tym też pierwszym na liście autorów) autorem publikacji.

3. Waszkiewicz, Radost, et al. "DNA supercoiling-induced shapes alter minicircle hydrodynamic properties." *Nucleic acids research* 51.8 (2023): 4027-4042.

Trzecia z prac dotyczy struktur łańcuchów DNA i znów – próba zrozumienia głównych sił wpływających na ich strukturę. Praca jest efektem działań trzech grup naukowych – teoretycznej z UW, w której doktorant jest współpracownikiem oraz dwóch grup eksperymentalnych. Głównym celem tej pracy było wyznaczenie promienia hydrodynamicznego z pomiarów eksperymentalnych dostarczonych przez ww grupy. Wkład doktoranta obejmował zaproponowanie i implementację metody numerycznego otrzymywania stabilnych struktur skręconych DNA. Dodatkowo obliczył on właściwości hydrodynamiczne skręconych DNA z użyciem kodu pygrry. Napisał on też wstępną wersję pracy, stworzył ilustracje i wizualizacje. Wkład doktoranta w tą pracę uznaję za znaczący. Warto zwrócić uwagę, że praca jest wieloautorska (9 autorów), a pierwszym (nie alfabetycznym) jest właśnie doktorant. Jak wspominałem już wcześniej w recenzji – czasopismo, w którym jest opublikowana praca, ma też wyjątkowo wysoki jak na nasze standardy współczynnik impact factor (14.9). Wkład z publikacji trzeciej został uzupełniony o zbadanie wpływu fluktuacji termicznych na promień hydrodynamiczny (3.3.1).

4. Waszkiewicz, Radost, et al. "PyChastic: Precise Brownian dynamics using Taylor-Itô integrators in Python." *SciPost Physics Codebases* (2023): 011.

Publikacja czwarta to implementacja metody całkowania dla symulacji dynamiki Browna. Autorzy postawili sobie za cel stworzenie gotowego pakietu obliczeniowego. Doktorant poprowadził tu zespół złożony z dwóch osób, współtworzył kod w Python, dokumentację oraz przykłady. Napisał też pierwszą wersję pracy oraz edytował wszystkie kolejne. Wkład doktoranta do tej pracy oceniam na dominujący, a sam fakt opublikowania kodu w tej formie (czasopismo, którego celem jest publikowanie kodów i algorytmów) uważam za ważny dla rozwoju dziedziny naukowej, którą się zajmuje.

5. Radost Waszkiewicz, Agnieszka Michaś, Michał K. Białobrzewski, Barbara Klepka, Maja Cieplak- Rotowska, Zuzanna Staszałek, Bogdan Cichocki, Maciej Lisicki, Piotr Szymczak, and Anna Niedźwiecka. "Minimum dissipation approximation: A fast algorithm for the prediction of diffusive properties of intrinsically disordered proteins" (wysłany do *Journal of Physical Chemistry Letters*)

Kolejna praca to preprint pracy wysłany do publikacji. Zawiera on rozwinięcie algorytmu badania właściwości dyfuzyjnych białek nieuporządkowanych (IDP). Autorzy chwalą się tu, że jako pierwsi przedstawiają wyniki badań spoza zakresu modeli fenomenologicznych. Zakładają też, że białka są ciałami sztywnymi. Tu pytanie: w jakich sytuacjach takie przybliżenie jest właściwe, czy nie powinniśmy jednak uwzględnić deformacji białek przynajmniej w ograniczonym zakresie? Praca, podobnie jak praca 3. jest efektem współpracy z grupą doświadczalną z IF PAN. Porównane zostały w niej eksperymentalne i teoretyczne wartości promienia hydrodynamicznego. Wykazane zostały lepsze własności rozwiązania opartego o model niefenomenologiczny. Kod z implementacją dostarczonego algorytmu został również zaimplementowany w Pythonie na bazie poprzednich kodów współautorów w Fortranie i opublikowany jako pakiet pygrpy.

W rozdziale 3.5.1 doktorant porównuje dwa modele generowania próbek i porównuje wyniki pomiaru rozpraszania promieni X zmierzone doświadczalnie z modelami globule-linker model oraz spaceru losowego bez samoprzecięć. To ciekawy wynik. Jestem zainteresowany aby dowiedzieć się więcej szczegółów o samym modelu błędzenia losowego bez samoprzecięć. Jak z jego pomocą generowane były próbki, jak długie spacery zostały wykonane? Czy nie powstawał problem blokowania się spaceru? Co ciekawe, interesująca jest zbieżność obu modeli dla dużych wielkości wektora rozpraszania  $q > 0.2$ , gdzie rozpoczyna się też obszar dużych błędów w pomiarze eksperymentalnym. Proszę doktoranta o komentarz i próbę wyjaśnienia na czym polega problem z modelowaniem - dlaczego w tym obszarze oba modele dają te same wyniki, ale nadal inne, niż doświadczenie? Czy nie wskazuje to na problemy w eksperymencie? Drugie pytanie dotyczy samych błędów: dlaczego wyniki modelu, w odróżnieniu od wyniku eksperymentalnego – nie posiadają zaznaczonych błędów? Czy układ również w modelach nie powinien wykazywać różnych wyników w zależności od warunków, w których wykonywany jest pomiar?

6. Waszkiewicz, Radost, and Maciej Lisicki. "The trimer paradox: the effect of stiff constraints on equilibrium distributions in overdamped dynamics." arXiv preprint arXiv:2403.13185 (2024).

Ostatnia ze zszytych publikacji dotyczy analizy właściwości cząsteczki „trimera” – trzech połączonych sprężyste kulek. W pracy tej autorzy podjęli próbę zbadania tej cząsteczki w granicy nieskończonej sztywności więzów. Praca jest aktualnie w recenzji (wysłana do Physical Review E). W tej publikacji doktorant jest po raz kolejny pierwszym autorem odpowiedzialnym za zaproponowanie problemu badawczego, wykonanie obliczeń i symulacji, napisanie pierwszej i edycje kolejnych wersji pracy.

Na końcu rozprawy (strona 129, Conclusions) doktorant podsumowuje treść rozprawy. Wskazane tu są dwa główne cele rozprawy, czyli 1- opracowanie (doktorant używa określenia zidentyfikowanie) teoretycznego podejścia umożliwiającego modelowanie makromolekuł odpowiadających eksperymentowi oraz 2- rozwinięcie modułowego systemu pozwalającego na wykorzystanie (pomiarów?) pochodzących z gruboziarnistych przybliżeń i technik eksperymentalnych. Ten drugi cel nie jest dla mnie precyzyjnie określony i prosiłbym o wnikliwe wytłumaczenie jego istoty. Autor wskazuje szereg wyników fizycznych, które uznaje za najważniejsze w kontekście swojej rozprawy. Są one ściśle związane z ww publikacjami. Narzuca mi się jedno pytanie - czy wskazane wyniki procedury skalowania molekuł rozciągniętych (rod-like, wynik pierwszy) można łatwo uogólnić na dowolny kształt molekuły? Jakie należałoby wykonać kroki, aby opisać np. cząsteczkę złożoną z kilku pokrywających się, sztywnych sfer?

Doktorant podsumowuje dalej praktyczne osiągnięcia swojej rozprawy wskazując oszacowanie promienia hydrodynamicznego struktur splątanych DNA, wyznaczenie promienia hydrodynamicznego 38 struktur nieuporządkowanych białek oraz opracowanie dostępnych (otwartych) kodów komputerowych pozwalających na wykonanie pomiarów współczynników dyfuzji podobnych molekuł.

Oprócz głównej osi pracy, którą jest sześć wyżej wymienionych publikacji, doktorant wskazuje trzy dodatkowe prace, nie omawiane szerzej w rozprawie, których jest pierwszym, drugim oraz znów pierwszym autorem

1. Waszkiewicz, R., Shaw, J. B., Lisicki, M., & Szymczak, P. (2024). Goldilocks fluctuations: dynamic constraints on loop formation in scale-free transport networks. *Physical Review Letters*, 132(13), 137401.
2. Turczynowicz, Jan, Radost Waszkiewicz, and Łukasz Gładczuk. "Preventing sinking of a disk by leveraging the Parametric Hydraulic Jump phenomenon." *arXiv preprint arXiv:2312.13099* (2023).
3. Waszkiewicz, Radost, and Honorata Bogusz. "The Impact of Parenthood on Labour Market Outcomes of Women and Men in Poland." *arXiv preprint arXiv:2306.12924* (2023).

Pierwsza z nich jest artykułem w czasopiśmie PRL dotyczącym procesu tworzenia się sieci transportu w obliczu fluktuacji hydrodynamicznych. Doktorant jest pierwszym autorem. Druga praca jest pracą bez udziału promotora i dotyczy zjawiska klasycznej mechaniki płynów (preprint). Ostatnia zaś to znów, praca bez promotora (preprint) spoza zagadnień fizyki. Nie jest mi znany dokładny wkład doktoranta w wyżej wspomniane prace dodatkowe, ale potwierdzają one zarówno szerokie horyzonty doktoranta jak i jego samodzielność, które pozwalają stwierdzić, iż odnajdzie (lub odnalazł już) on swoje miejsce w świecie naukowym i z sukcesem będzie kontynuował badania po uzyskaniu stopnia doktora.

Wymienię jeszcze drobne uwagi nie wpływające na ogólną ocenę naukową rozprawy, ale warte pamiętania:

- O równaniach (1.1) i (1.2) warto mówić jako równaniach Naviera-Stokesa (nie o równaniu), bo one nie występują osobno
- Strona 52, „therory” – powinno być theory
- W opisie własnego wkładu do publikacji doktorant używa sformułowania „they”, zamiast „he” lub „I” – zakładam, że to jedynie drobna nieścisłość językowa (niestety, powtarzana konsekwentnie przy opisach wkładów doktoranta do omawianych publikacji) – proszę o wyjaśnienie.

Mam też dwa ostatnie pytanie do doktoranta. Który ze swoich wyników naukowych doktorant uznaje za najciekawszy? Proszę precyzyjnie wskazać i określić możliwe kierunki rozwoju tego wyniku w dalszej pracy naukowej.

Po lekturze rozprawy i wstępu do publikacji, uznając wkład naukowy doktoranta w przeprowadzone w zespołach badania wskazane przy opisie załączonych publikacji uznaję, że rozprawa prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną doktoranta w dyscyplinie fizyka, ze szczególnym wskazaniem na fizykę statystyczną oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia przez niego pracy naukowej. Zagadnienia poruszane w przedstawionej pracy, a w szczególności wyznaczenie promienia hydrodynamicznego molekuł DNA i białkowych są zagadnieniami trudnymi i związanymi bezpośrednio z fizyką.

Przedłożone sześć publikacji (z których opublikowane są już cztery), oraz dodatkowe trzy, w których w dwóch doktorant występuje również bez promotora wskazują wyraźnie na jego samodzielność.

Moim zdaniem przedmiot rozprawy doktorskiej, czyli badanie właściwości elastycznych molekuł w kontekście hydrodynamicznym i zjawisk transportu dyfuzyjnego z użyciem opracowanych teorii i narzędzi jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego. Składające się na rozprawę prace naukowe opublikowane w recenzowanych czasopismach, w których doktorant wykazał wiodący udział, zawierają oryginalne wyniki badań przeprowadzonych albo przez samego doktoranta, albo przez zespoły, w których pełnił on wiodącą rolę.

Moja konkluzja na temat pracy jest pozytywna i wnoszę o dopuszczenie doktoranta do dalszych etapów postępowania w celu nadania mu tytułu naukowego doktora.



dr hab. Maciej Matyka, prof. UWr  
Instytut Fizyki Teoretycznej  
Wydział Fizyki i Astronomii  
Uniwersytet Wrocławski