

Warszawa, 7 VI 2024 r.

Dr hab. Bartosz Różycki
Instytut Fizyki PAN
Aleja Lotników 32/46
02-668 Warszawa
tel.: 22 116 3224
e-mail: rozycki@ifpan.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej pana mgra Radosta Waszkiewicza zatytułowanej “Hydrodynamic techniques in the study of elastic macromolecules”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. “Hydrodynamic techniques in the study of elastic macromolecules” autorstwa pana mgra Radosta Waszkiewicza dotyczy modelowania efektów hydrodynamicznych w układach mikroskopowych zawierających biopolimery takie jak cząsteczki DNA (od ang. *deoxyribonucleic acid*) lub białka typu IDP (od ang. *intrinsically disordered proteins*). Rozprawa składa się z dwóch części. Pierwsza część ma charakter wstępu i zawiera przegląd podstaw teoretycznych niezbędnych do konstrukcji modeli przedstawionych i rozwiązanych w niniejszej rozprawie. Druga część zawiera oryginalne wyniki pracy doktorskiej. Tworzy ją sześć prac posiadających wspólny motyw wiodący — mikroskopowy opis dynamiki biopolimerów w roztworze wodnym. Pięć z tych prac zostało zrecenzowanych i opublikowanych w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Szósta praca została złożona do czasopisma *Physical Review E* i jest w recenzji. Łącznie prace te pokazują różnorodność zjawisk wynikających z współwystępowania elastyczności makromolekuł, fluktuacji termicznych i sił lepkości.

Pierwsza część rozprawy składa się z siedmiu rozdziałów. W rozdziale 1.1 przedstawione są przybliżenia powszechnie stosowane w hydrodynamice układów koloidalnych, które pozwalają uprościć nieliniowe równania Naviera-Stokesa (1.1) do liniowych równań Stokesa (1.9). Przybliżenia te opierają się na małych wartościach liczby Reynoldsa oraz rozdzieleniu skal czasowych dla typowych układów koloidalnych. W rozdziale 1.2 wprowadzone są tzw. macierze ruchliwości, których istnienie i wykorzystanie wynika z liniowości równań Stokesa. Zarysowane jest tu w szczególności przybliżenie RPY (Rotne-Prager-Yakamawa). Szkoda, że nie wszystkie oznaczenia występujące w równaniach (1.13) i (1.15) zostały wyjaśnione w tekście. Rozdział 1.3 zawiera przegląd podstaw matematycznego opisu ruchów Browna — od równania Langevina i granicy ruchu przetłumionego ($M/\zeta\tau_D \rightarrow 0$) do procesu Wienera i całek stochastycznych w sensie Ito. Rozdział ten jest dobrym wprowadzeniem do pracy IV zamieszczonej w drugiej części rozprawy. W rozdziale 1.4 wprowadzone jest pojęcie promienia hydrodynamicznego i omówione są metody jego obliczania zarówno dla cząstek sztywnych jak i elastycznych. Rozdział ten jest

szczególnie istotny w kontekście prac III i V zawartych w drugiej części rozprawy. Rozdział 1.5 dotyczy gruboziarnistego modelowania dwóch klas makromolekuł istotnych biologicznie — DNA i białek pozbawionych stabilnej struktury trzeciorzędowej — które są nie tylko bezpośrednim obiektem badań w pracach III i V ale także istotną motywacją badań w pozostałych pracach zawartych w drugiej części rozprawy. W rozdziale tym przedyskutowane są między innymi różne skale długości występujące w kontekście oddziaływań wewnątrzcząsteczkowych i elastyczności DNA i białek nieustrukturyzowanych. Z obowiązku recenzenta muszę wskazać błąd w tabeli 1.1. Otóż, długość Debye'a zależy oczywiście od siły jonowej roztworu, ale w warunkach zbliżonych do fizjologicznych, tzn. przy stężeniu soli około 150 mM, długość Debye'a jest rzędu 1 nm, nie 1 Å, jak podano w tabeli 1.1.

Mam też pytanie dotyczące rozdziału 1.5. Miarą sztywności biopolimerów (takich jak omawiane w rozprawie cząsteczki DNA i białka nieustrukturyzowane) może być tzw. długość persystencji, która na str. 12 zdefiniowana jest jako iloraz modułu sztywności zginania rozważanego biopolimeru i energii wzbudzeń termicznych ($k_B T$). Moduł sztywności na zginanie jest wielkością używaną w mechanice ośrodków ciągłych. Jak wielkość ta zdefiniowana jest dla pojedynczej makromolekuły (takiej jak np. białko nieustrukturyzowane)? Czy i jak mierzona jest doświadczalnie ta wielkość dla pojedynczych makromolekuł (takich jak np. cząsteczka DNA)?

Rozdział 1.6 jest kontynuacją rozdziału 1.5 i dotyczy wpływu ruchów termicznych na konformacje cząsteczek DNA (o długości persystencji rzędu kilkudziesięciu nanometrów) i białek nieustrukturyzowanych (o długości persystencji rzędu kilku Angströmów) oraz związanych z nim przybliżeń używanych w modelach gruboziarnistych biopolimerów. Rozdział 1.7 zwięźle podsumowuje teoretyczne podstawy metod doświadczalnych, które zostały użyte w pracach III i V przez współautorów pana mgra Radosta Waszkiewicza. Po rozdziale 1.7 następuje zwięzły opis pakietów oprogramowania, które pan mgr Radost Waszkiewicz utworzył i użył do rozwiązania problemów naukowych w ramach swojej pracy doktorskiej. Dalej następuje zwięzłe podsumowanie każdej z prac I - VI stanowiących rdzeń rozprawy doktorskiej. Pierwsza część rozprawy kończy się zdefiniowaniem zasadniczych celów pracy doktorskiej.

Pierwsza część rozprawy jest napisana starannie i zawiera tylko drobne niedociągnięcia, które wspominałem powyżej. Układ treści jest starannie dobrany i bardzo trafny. Co ważne, pierwsza część rozprawy demonstrowa głębokie zrozumienie przez pana mgra Radosta Waszkiewicza takich działów fizyki jak hydrodynamika, równowagowa mechanika statystyczna i teoria procesów stochastycznych.

Druga część rozprawy zawiera publikacje I - VI, które podsumowane są kolejno poniżej.

Praca I nosi tytuł “Hydrodynamic effects in the capture of rod-like molecules by a nanopore”. Opublikowana została w czasopiśmie *Journal of Physics: Condensed Matter* w roku 2021. Jej autorami są mgr Radost Waszkiewicz i dr hab. Maciej Lisicki.

W pracy I zbadano wpływ oddziaływań hydrodynamicznych i fluktuacji termicznych na ruch sztywnej, jednorodnie naładowanej cząsteczki o kształcie pręcika przyciąganej elektrostatycznie przez punktowy otwór w twardej ścianie. Rozważany układ jest ciekawy ze względu na analogię do procesu sekwencjonowania krótkich fragmentów DNA, które w przybliżeniu mogą być modelowane jako sztywne, jednorodnie naładowane pręciki.

W pracy I uwzględniony został wpływ anizotropii hydrodynamicznej wywołanej zarówno kształtem cząsteczki jak i obecnością twardej ściany na proces dochodzenia cząsteczki do otworu. Praca I dostarcza między innymi prostych kryteriów pozwalających określić, w jakich obszarach możliwy jest uproszczony opis układu zaniedbujący hydrodynamiczne oddziaływania z twardą ścianą.

Z deklaracji pana mgra Radosta Waszkiewicza zamieszczonej na str. 22 rozprawy wynika, że miał on wiodący wkład w powstanie publikacji I. Wspólnie z promotorem wprowadził on opis teoretyczny rozważanego układu i przeprowadził analizę opartą na argumentach skalowania. Zaimplementował poprawki na hydrodynamiczne oddziaływanie z twardą ścianą do macierzy ruchliwości. Samodzielnie uzyskał wszystkie zaprezentowane w pracy I wyniki numeryczne. Brał też udział w analizie wyników. Ponadto zrobił rysunki zamieszczone w artykule I, napisał pierwszą (roboczą) wersję pracy i redagował wszystkie kolejne jej wersje.

Praca II nosi tytuł “Stability of sedimenting flexible loops”. Opublikowana została w czasopiśmie *Journal of Fluid Mechanics* w roku 2021. Jej autorami są mgr Radost Waszkiewicz, prof. dr hab. Piotr Szymczak i dr hab. Maciej Lisicki.

Procesem badanym w pracy II — za pomocą zarówno metod numerycznych jak i analizy stabilności liniowej — jest sedymentacja cienkiej, elastycznej pętli w lepkim płynie. W pracy II wyznaczony został w szczególności zakres parametrów fizycznych, w którym elastyczna pętla pozostaje stabilna na wyboczenia. Przedstawione wyniki dostarczają informacji o warunkach, w których może zachodzić wyboczenie biopolimerów w procesie ultrawirowania analitycznego, który jest powszechnie używany do wyznaczania promienia hydrodynamicznego cząstek koloidalnych i makromolekuł.

Z deklaracji pana mgra Radosta Waszkiewicza zamieszczonej na str. 31 rozprawy wynika, że miał on wiodący wkład w powstanie publikacji II. Wspólnie ze współautorami wprowadził on opis teoretyczny rozważanego układu. Przeprowadził analizę stabilności równania ewolucji kształtu pętli i wyznaczył kryterium stabilności wykorzystując oryginalną metodę macierzy. Uzyskał wszystkie zaprezentowane w pracy II wyniki numeryczne. Ponadto zrobił rysunki zamieszczone w artykule II,

napisał pierwszą (roboczą) wersję pracy i redagował wszystkie kolejne jej wersje. Warto zaznaczyć, że pan mgr Radost Waszkiewicz jest też autorem korespondencyjnym pracy II.

Praca III nosi tytuł “DNA supercoiling-induced shapes alter minicircle hydrodynamic properties”. Powstała ona we współpracy z grupami badawczymi spoza Uniwersytetu Warszawskiego i została opublikowana w prestiżowym czasopiśmie *Nucleic Acids Research* w roku 2023. Jej autorami są Radost Waszkiewicz, Maduni Ranasinghe, Jonathan M. Fogg, Daniel J. Catanese, Maria L. Ekiel-Jezewska, Maciej Lisicki, Borries Demeler, Lynn Zechiedrich i Piotr Szymczak.

Obiektem badań pracy III były pętle DNA o długościach 336 i 672 par zasad. Celem pracy było zbadanie, jak na właściwości hydrodynamiczne tych pętli wpływa ich krzywizna i trzeciorzędowe skręcenie (ang. *supercoiling*).

Na podstawie liniowej teorii elastyczności i hydrodynamiki wyznaczony został kształt pętli DNA i ich współczynniki dyfuzji w lepkim płynie w zależności od stopnia ich skręcenia. Pomiarów eksperymentalnych współczynników dyfuzji i sedymentacji uzyskane za pomocą ultrawirowania analitycznego wykazują dobrą zgodność z przewidywaniami teoretycznymi.

Z deklaracji pana mgra Radosta Waszkiewicza zamieszczonej na str. 52 rozprawy wynika, że miał on istotny wkład w powstanie publikacji III. Przede wszystkim, pan mgr Radost Waszkiewicz zaproponował i zaimplementował numeryczną metodę wyznaczania kształtu pętli DNA oraz obliczył właściwości hydrodynamiczne tych pętli w zależności od ich kształtu. Ponadto zrobił większość rysunków zamieszczone w artykule III, napisał pierwszą (roboczą) wersję pracy i redagował wszystkie kolejne jej wersje.

Dodatkiem do publikacji III jest podrozdział 3.3.1 na str. 69 rozprawy. W obliczeniach przedstawionych w pracach II i III pominięte zostały fluktuacje termiczne. W rozdziale 3.3.1 — używając oprogramowania wprowadzonego w pracy IV — pan mgr Radost Waszkiewicz wykazał, że wpływ fluktuacji termicznych na promień hydrodynamiczny pętli DNA badanych w pracy III jest znikomy.

Praca IV nosi tytuł “Pychastic: Precise Brownian dynamics using Taylor-Itô integrators in Python”. Opublikowana została w roku 2023 w czasopiśmie *SciPost Physics* znajdującym się na liście ministerialnej. Jej autorami są Radost Waszkiewicz, Maciej Bartczak, Kamil Kolasa i Maciej Lisicki. Warto zaznaczyć, że pan mgr Radost Waszkiewicz jest autorem korespondencyjnym.

Pracę IV stanowi nowa implementacja numerycznego całkowania stochastycznych równań różniczkowych do symulacji dynamiki brownowskiej. Wprowadzone algorytmy są efektywne i umożliwiają uwzględnienie oddziaływań hydrodynamicznych w ramach przybliżenia RPY. Moim

zdaniem, oprogramowanie wprowadzone w pracy IV może znaleźć wiele zastosowań nie tylko w fizyce materii miękkiej ale także w biofizyce obliczowej.

Z deklaracji pana mgra Radosta Waszkiewicza zamieszczonej na str. 70 rozprawy wynika, że miał on zdecydowanie wiodący wkład w powstanie publikacji IV. Przede wszystkim, opracował on koncepcję projektu badawczego i kierował zespołem programistów (tworzonym przez Macieja Bartczaka i Kamila Kolasę), z którym tworzył oprogramowanie wraz z dokumentacją zawierającą liczne testy i przykłady. Był też współautorem przykładów ilustrujących konkretne zastosowania opracowanego programowania. Ponadto napisał pierwszą (roboczą) wersję pracy i redagował wszystkie kolejne jej wersje.

Praca V pod tytułem “Hydrodynamic radii of intrinsically disordered proteins: fast prediction by minimum dissipation approximation and experimental validation” została opublikowana w prestiżowym czasopiśmie *Journal of Physical Chemistry Letters* w roku 2024. Powstała one we współpracy z grupą badawczą pod kierownictwem dr hab. Anny Niedźwieckiej z Instytutu Fizyki PAN. Autorami pracy V są: Radost Waszkiewicz, Agnieszka Michaś, Michał K. Białobrzewski, Barbara P. Klepka, Maja K. Cieplak-Rotowska, Zuzanna Staszalek, Bogdan Cichocki, Maciej Lisicki, Piotr Szymczak i Anna Niedźwiecka.

Celem pracy V jest precyzyjne wyznaczenie — zarówno metodami doświadczalnymi (przy użyciu spektroskopii korelacji fluorescencji) jak i teoretycznymi — promienia hydrodynamicznego białek pozbawionych stabilnej struktury trzeciorzędowej. Wprowadzony został gruboziarnisty model GLM (od ang. *globule-linker model*), który w połączeniu z hydrodynamicznym przybliżeniem minimalnej dyssypacji pozwala obliczyć promień hydrodynamiczny tego typu białek. Podejście to daje statystycznie lepszą zgodność z wynikami doświadczeń niż wcześniej wprowadzone modele fenomenologiczne.

Z deklaracji pana mgra Radosta Waszkiewicza zamieszczonej na str. 90 rozprawy jasno wynika, że miał on istotny wkład w powstanie publikacji V. Otóż, współtworzył on koncepcję gruboziarnistego modelowania białek pozbawionych struktury trzeciorzędowej, przeanalizował różne metody generowania gruboziarnistych konfiguracji tego typu białek, zaimplementował model GLM oraz obliczenia uogólnionych macierzy ruchliwości w przybliżeniu RPY oraz przeprowadził obliczenia numeryczne i analizy statystyczne, które umożliwiły porównanie wyników obliczeniowych z doświadczalnymi. Ponadto napisał pierwszą (roboczą) wersję pracy i redagował wszystkie kolejne jej wersje.

Dodatkiem do publikacji V jest podrozdział 3.5.1 na str. 119 rozprawy, w którym pan mgr Radost Waszkiewicz pokazuje, w jaki sposób wygenerowane w ramach modelu GLM gruboziarniste konfiguracje białek pozbawionych struktury trzeciorzędowej mogą być ilościowo porównane z wynikami doświadczeń rozpraszania promieniowania rentgenowskiego pod małymi kątami (SAXS

od ang. *small angle X-ray scattering*). Podejście to jest ciekawe, gdyż wyniki doświadczeń SAXS dostarczają informacji nie tylko o promieniu obrotowym badanej makromolekuły ale także o stopniu jej ustrukturyzowania (jak ilustruje to wykres Kratky'ego na rys. 3.2).

Praca VI nosi tytuł "The trimer paradox: the effect of stiff constraints on equilibrium distributions in overdamped dynamics". Jej autorami są Radost Waszkiewicz i Maciej Lisicki. Praca VI została złożona do czasopisma *Physical Review E*.

W pracy VI rozważany jest teoretyczny problem rozkładów równowagowych dla cząsteczek o wielu stopniach swobody, z których część jest silnie ograniczona (na przykład przez wiązania chemiczne). Autorzy wykazują, że istotne detale potencjałów realizujących te ograniczenia zostały przeoczone we wcześniejszych pracach i proponują nową, ścisłą matematycznie metodę ich uwzględnienia.

Z deklaracji pana mgra Radosta Waszkiewicza zamieszczonej na str. 120 rozprawy wynika, że miał on wiodący wkład w powstanie publikacji VI, gdyż zaproponował on hipotezę badawczą, obliczył rozkład graniczny, wykonał symulacje numeryczne, napisał pierwszą (roboczą) wersję pracy i redagował wszystkie kolejne jej wersje.

Drugą część rozprawy kończy podsumowanie głównych celów i wyników pracy doktorskiej (str. 129) oraz lista prac naukowych niezwiązanych z rozprawą doktorską (str. 130). Warto w tym miejscu zaznaczyć, że pan mgr Radost Waszkiewicz jest pierwszym autorem pracy pt. "Goldilocks fluctuations: dynamic constraints on loop formation in scale-free transport networks", która została opublikowana w 2024 roku w prestiżowym czasopiśmie *Physical Review Letters*.

Rozprawę doktorską zamyka spis literatury zawierający 81 pozycji.

Podsumowując, przedmiotem przedstawionej przez pana mgra Radosta Waszkiewicza rozprawy doktorskiej pt. "Hydrodynamic techniques in the study of elastic macromolecules" jest oryginalne rozwiązanie kilku problemów naukowych dotyczących zjawisk elastohydrodynamicznych w skali mikroskopowej. Na przedstawioną rozprawę składa się sześć publikacji naukowych. Pan mgr Radost Waszkiewicz jest pierwszym autorem każdej z tych publikacji i jednocześnie autorem korespondencyjnym publikacji II, IV i VI. Z deklaracji pana mgra Radosta Waszkiewicza zamieszczonych w rozprawie wynika, że miał on zdecydowanie wiodący wkład w powstanie publikacji I, II, IV i VI oraz bardzo istotny wkład w powstanie publikacji III i V, które są wynikiem jego współpracy z grupami prowadzącymi badania eksperymentalne. Rozprawa jako całość dowodzi nie tylko umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez pana mgra Radosta Waszkiewicza ale także wykazuje jego ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie nauki fizyczne oraz dogłębne zrozumienie hydrodynamiki, teorii procesów stochastycznych i ogólnie fizyki statystycznej.

Moim zdaniem, rozprawa doktorska pt. "Hydrodynamic techniques in the study of elastic macromolecules" autorstwa pana mgra Radosta Waszkiewicza spełnia z nadmiarem wszystkie ustawowe i zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim. Dlatego wnoszę o dopuszczenie pana mgra Radosta Waszkiewicza do dalszych etapów obrony pracy doktorskiej.

Ponadto zgłaszam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej pana mgra Radosta Waszkiewicza za bardzo wysoką jakość naukową cyklu prac I-VI stanowiących rdzeń rozprawy pt. "Hydrodynamic techniques in the study of elastic macromolecules".

W czasie doktoratu pan mgr Radost Waszkiewicz nie tylko rozwiązał kilka oryginalnych problemów naukowych przeprowadzając szereg złożonych obliczeń analitycznych i numerycznych — bazujących na mechanice ośrodków ciągłych, teorii procesów stochastycznych i równowagowej mechanice statystycznej — ale także inicjował projekty badawcze, tworzył specjalistyczne oprogramowanie do symulacji numerycznych i aktywnie współpracował z grupami prowadzącymi badania eksperymentalne, co świadczy zarówno o jego szerokim spektrum umiejętności jak i o jego głębokim zaangażowaniu w pracę naukową. Dlatego wyróżnienie rozprawy doktorskiej pana mgra Radosta Waszkiewicza wydaje mi się w pełni uzasadnione.

Bartosz Różycki