



HIRSZFELD INSTITUTE OF IMMUNOLOGY
AND EXPERIMENTAL THERAPY,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES
Centre of Excellence: IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLAND
Phone: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71
www.iitd.pan.wroc.pl

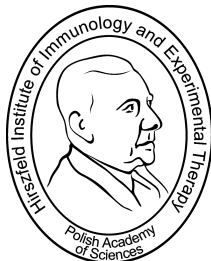
Wrocław, dnia 7.01.2025

Dr hab. Łukasz Łaczmański, prof. nadzw. IITD PAN
Laboratorium Genomiki i Bioinformatyki IITD PAN

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Sophii Bałdysz „A new identification method of phage cell wall-associated lytic proteins” wykonanej pod opieką dr hab. Roberta Nawrota, prof. UAM oraz dr hab. Jakuba Barylskiego.

Wielolekooporność bakterii stanowi jedno z najpoważniejszych wyzwań współczesnej medycyny, znacząco ograniczając skuteczność terapii antybiotykowych i zwiększając ryzyko występowania trudnych do wyleczenia zakażeń. Zjawisko to jest w dużej mierze efektem powszechnego oraz często niekontrolowanego stosowania antybiotyków, które sprzyja selekcji i rozprzestrzenianiu się opornych szczepów mikroorganizmów. W obliczu tej narastającej presji klinicznej, konieczne jest poszukiwanie alternatywnych strategii terapeutycznych, które mogą uzupełnić lub zastąpić tradycyjne leczenie antybiotykowe. Jednym z najbardziej obiecujących podejść jest fagoterapia, opierająca się na wykorzystaniu bakteriofagów jako środka terapeutycznego. Choć metoda ta zyskała szerokie zainteresowanie w ostatnich latach, jej potencjał kliniczny jest ograniczony przez kilka czynników. Do najważniejszych barier należą zmienna skuteczność fagów wobec różnych szczepów bakterii oraz trudności w uzyskaniu specyficznych wirusów zdolnych do efektywnej eliminacji patogenów w konkretnym środowisku gospodarza. Alternatywnym kierunkiem badawczym, który wykazuje duży potencjał aplikacyjny, jest zastosowanie białek litycznych. Te enzymy, naturalnie produkowane przez bakteriofagi, charakteryzują się zdolnością hydrolizy składników ściany komórkowej bakterii, co prowadzi do ich lizy i eliminacji. Ze względu na ich specyficzne działanie i wysoką skuteczność wobec bakterii, białka lityczne mogą być rozwijane zarówno jako samodzielne środki terapeutyczne, jak i jako element terapii skojarzonej z antybiotykami. Ich zastosowanie w połączeniu z tradycyjnymi lekami przeciwbakteryjnymi może nie tylko zwiększyć skuteczność leczenia, ale również zmniejszyć ryzyko selekcji opornych szczepów. Tym samym, rozwój i optymalizacja wykorzystania fagów oraz białek litycznych stanowi obiecującą drogę w poszukiwaniu nowych rozwiązań terapeutycznych w erze narastającej oporności na antybiotyki.

W tą tematykę wpisuje się oceniana rozprawa doktorska. Ma ona typowy układ, powszechnie stosowany w pracach eksperymentalnych. Zawiera teoretyczny wstęp wprowadzający nas w tematykę, zakończony zwięzłym przedstawieniem celów pracy, dokładnie opisane materiały i metody, wyniki oraz dyskusję. W rozprawie doktorskiej mgr Sophia Bałdysz zacytowała aż 226 artykułów badawczych, z których 79 (ok 34%) zostało opublikowanych w ostatnich 5 latach.



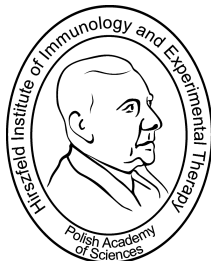
HIRSZFELD INSTITUTE OF IMMUNOLOGY
AND EXPERIMENTAL THERAPY,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES
Centre of Excellence: IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLAND
Phone: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71
www.iitd.pan.wroc.pl

Pierwsza, teoretyczna część Rozprawy Doktorskiej składa się z dwunastu rozdziałów wprowadzających nas w tematykę pracy. W pierwszych sześciu autorka omawia szczegółowo budowę oraz działanie enzymów litycznych. Następnie skupia się na temacie wykorzystania praktycznego tych białek w medycynie i weterynarii. Szczególnie interesujący jest rozdział porównujący antybiotykoterapię z fagoterapią oraz działaniem białek lizujących. Na koniec tej części dysertacji Doktorantka omawia dostępne bazy danych oraz metody bioinformatyczne służące do identyfikacji tych białek. Niewątpliwie wstęp teoretyczny świadczy o bardzo szerokiej wiedzy Doktorantki w interesującym ją temacie. Część biologiczna jest opisana niezwykle szczegółowo i stanowi ciekawe źródło informacji dotyczący budowy i zasady działania białek lizujących. Jednakże czytając odnosi się wrażenie, że ten aspekt zdominował tą część dysertacji. Jednocześnie zdaniem recenzenta zabrakło miejsca na dokładniejsze opisanie części bioinformatycznej. Wprawdzie Doktorantka opisuje obecnie stosowane metody *in silico* do identyfikacji tych białek jednak nie umieściła we wstępie żadnego wprowadzenia opisującego podstawy uczenia maszynowego czy sieci neuronowych. Wykorzystując te metody w pracy badawczej należałoby poświęcić przynajmniej jeden rozdział na ich dokładniejsze opisanie.

W kolejnej, doświadczalnej części rozprawy doktorskiej Pani mgr Natalia Jamrozik opisała wykorzystane w pracy materiały i metody. Rozdział ten został napisany w sposób przejrzysty i zrozumiały. Metody zostały poprawnie dobrane do planowanych badań i bardzo dobrze opisane. Doktorantka jednakże nie ustrzegła się nieścisłości o które z obowiązku recenzenta muszę zapytać:

1. W rozdziale 3.2 (według pdf strona 51) czytamy: „In both cases the statistical significance of the overrepresentation in the positive set was determined using an unpaired, one-tailed student t-test”. Powstaje pytanie czy zostały sprawdzone założenia niezbędne do wykonania parametrycznego testu t-Studenta (normalność rozkładu, jednorodność wariancji)? Jeśli założenia nie są spełnione, albo z jakiegoś powodu nie można przeprowadzić ich weryfikacji, zaleca się ponowne przetestowanie hipotezy nieparametrycznym testem Wilcoxon-Manna-Whitneya i sprawdzenie zbieżności wyników.
2. Na tej samej stronie czytamy również: „differences were considered significant if the p-value was lower than $1e-50$ ”. Proszę wyjaśnić czy jest to literówka i powinno być $1e-5$, czy i dlaczego zostały przyjęte tak rygorystyczne warunki kontroli błędu I rodzaju.
3. W rozdziale 3.5 (według pdf str 54) jest napisane „The values of the Pearson correlation between the „status” of the protein and the physicochemical properties were calculated and values < -0.449 or > 0.449 were selected as significant”. Powstaje pytanie w jaki sposób Doktorantka orzekła o istotności wartości progowych współczynnika korelacji: czy przetestowała ich istotność, czy zweryfikowała je w sposób heurystyczny, stwierdzając, że takie wartości zapewniają wystarczającą siłę predykcyjną?



HIRSZFELD INSTITUTE OF IMMUNOLOGY
AND EXPERIMENTAL THERAPY,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES

Centre of Excellence: IMMUNE

Rudolf Weigl 12, 53-114 Wrocław, POLAND

Phone: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

4. Na stronie 56 (wg pdf) we wzorze Acc brakuje nawiasów w związku z tym ma on błędną formę.
5. Na stronie 57 czytamy: „Each training and test set was created in triplicate. Within each dataset, the classifiers were cross assessed using an 8-fold cross validation method, which splits the data into portions which are used to train and test in different iterations”. Dlaczego Doktorantka zdecydowała się akurat na układ w postaci 3-krotnej iteracji 8-krotnej walidacji skośnej, a nie badanie siły predykcyjnej wybranej reprezentacji cech przy użyciu bardziej standardowego układu eksperymentalnego zalecanego przez literaturę (np. 5-krotnej iteracji 2-krotnej walidacji skośnej - T. G. Dietterich, “Approximate Statistical Tests for Comparing Supervised Classification Learning Algorithms,” Neural Computation, vol. 10, no. 7, pp. 1895– 1923, Oct. 1998)?
6. Również na tej stronie czytamy: „In this approach, the optimizer searches the hyperparameter space for possible optima while exploring a landscape of the target/loss function (in this case the F1 score of the classification in the test set) and searching for areas of potential improvement (...)”. Jednakże niektórzy autorzy odradzają korzystanie z miary F1 podczas ewaluacji jakości klasyfikacji z uwagi na niekorzystne cechy tej miary, takie jak wrażliwość na zamianę etykiet klas (pozytywna staje się negatywną i na odwrót) oraz niezależność od klasy TN w macierzy pomyłek. Czy nie należy rozważyć przeprowadzenie powyższej procedury korzystając z innych miar jako funkcji celu, na przykład miary MCC albo MCEN? (Przykładowe dane literaturowe: D. Chicco and G. Jurman, “The advantages of the Matthews correlation coefficient (MCC) over F1 score and accuracy in binary classification evaluation,” BMC Genomics, vol. 21, no. 1, p. 6, Jan. 2020; R. Delgado and J. D. N´uñez-González, “Enhancing Confusion Entropy (CEN) for binary and multiclass classification,” PLOS ONE, vol. 14, no. 1, p. e0210264, Jan. 2019).

W kolejnej części, doświadczalnej Doktorantka opisuje otrzymane wyniki. Zostały one przedstawione na 41 stronach zawierających 27 rysunków oraz 12 tabel. Ta część została napisana bardzo przejrzysto co znacznie ułatwiło jej analizę. Liczne wykresy i tabele doskonale obrazują ogrom pracy, którą wykonała Doktorantka. Warto podkreślić, że w opisywanych wynikach znalazły się nie tylko analizy bioinformatyczne jak również bardzo dobrze przedstawione i skomentowane wyniki prac laboratoryjnych. Takie interdyscyplinarne podejście do tematu jest niezwykle dojrzałe naukowo i stanowi bardzo istotny element nowatorski przedstawionej dysertacji.

Rozprawę Doktorską wieńczy dość zwięzła 5 stronicowa Dyskusja, zakończona sześcioma punktami podsumowania oraz pięcioma wnioskami. W tej części Doktorantka odnosi się do uzyskanych wyników w aspekcie doniesień literaturowych. Pokazuje w przejrzysty sposób jak



HIRSZFELD INSTITUTE OF IMMUNOLOGY
AND EXPERIMENTAL THERAPY,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES

Centre of Excellence: IMMUNE

Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, POLAND

Phone: (+48-71) 337 11 72, (+48-71) 370 99 30 Fax: (+48-71) 337 21 71

www.iitd.pan.wroc.pl

jej wyniki kształtują się w odniesieniu do poprzednio stworzonych algorytmów oraz baz danych. Ten rozdział został bardzo dobrze napisany i właściwie nie mam do niego uwag.

Na zakończenie mam komentarz edytorski. Dużym problemem podczas analizy dysertacji był brak numeracji stron. W związku z tym było trudno recenzentowi poruszać się po rozprawie i odnosić swoje uwagi do konkretnych miejsc w tekście. Dlatego byłem zmuszony korzystać z numeracji stron pliku pdf, która nie musi być tożsama z numeracją w wersji papierowej. Chciałbym też zauważyć, że Doktorantka nie podała programu, w którym wykonała schematy oraz struktury krystaliczne. Taka informacja powinna pojawić się w opisach pod rysunkami lub w materiałach i metodach.

Przedstawione przeze mnie uwagi krytyczne w żadnym razie nie umniejszają mojej bardzo wysokiej oceny merytorycznej recenzowanej Rozprawy Doktorskiej. Jest ona interesująca i nowatorska. Co więcej jak wspomniałem wcześniej stanowi ciekawe połączenie analiz bioinformatycznych z potwierdzeniem wyników poprzez eksperyment badawczy. Przedstawione uwagi mają charakter pytań i dyskusji naukowej oraz sugestii edytorskich do uwzględnienia przy planowanych publikacjach opisywanych wyników.

Dlatego po wnikliwym zapoznaniu się z rozprawą doktorską Pani mgr Sophii Bałdysz uważam, że przedstawiona do oceny Rozprawa Doktorska zawiera oryginalne, bardzo ciekawe wyniki i spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Biologicznych Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza o dopuszczenie Pani mgr Sophii Bałdysz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Łukasz Łaczmański, prof. IITD PAN