

Politechnika Warszawska
Instytut Informatyki

**KWESTIONARIUSZ-RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
DLA RADY NAUKOWEJ DYSCYPLIN MATEMATYKA I INFORMATYKA
UNIwersytetu Warszawskiego**

Tytuł rozprawy: Implementacja systemu wnioskującego za pomocą DNA

Autor rozprawy: mgr Łukasz Rogowski

- 1. Jakie zagadnienie naukowe jest rozpatrywane w pracy (teza rozprawy) i czy zostało ono dostatecznie jasno sformułowane przez autora? Jaki charakter ma rozprawa (teoretyczny, doświadczalny, inny)?**

Recenzowana praca dotyczy zagadnień implementacji logiki klasycznej za pomocą łańcuchów DNA (kwas deoksyrybonukleinowy). Jest to drugie recenzowanie poprawionej rozprawy.

Działanie systemu rozpatrywanego w rozprawie oparte jest na mechanizmie splatania czyli naprzemiennego cięcia i łączenia się łańcuchów DNA. Idea ta znacznie rozszerza znane do tej pory systemy wnioskujące, uwzględniając między innymi spójnik negacji i związane z nim prawa rachunku zdań. Zagadnienie naukowe rozpatrywane w pracy zostało dostatecznie jasno sformułowane przez Autora.

Głównym celem pracy jest zebranie zalet wszystkich dotychczas istniejących modeli oraz wyeliminowanie wad, które zawierają. Rozważania te zmierzają w kierunku opracowania pełnego systemu wnioskowania logicznego zgodnego z klasycznym rachunkiem zdań.

W recenzowanej rozprawie chociaż zatytułowano jeden z punktów jako cel i teza pracy; to jednak wyraźnie nie sformułowano tezy pracy. Natomiast sformułowano wiele szczegółowych celów pracy, które są następujące:

- Analiza znanych wcześniej koncepcji systemu wnioskującego za pomocą DNA, stanowiących podstawę opracowania nowego systemu wnioskującego.
- Opracowanie koncepcji w pełni autonomicznego systemu wnioskującego za pomocą DNA, znacznie rozszerzającego możliwości znanych wcześniej systemów, a także eliminującego ich wady.
- Wprowadzenie spójnika negacji i praw klasycznego rachunku zdań, które bezpośrednio się z nim wiążą. Umożliwienie zadawania zapytań, które również uwzględniają negację jak i o dowolne zdanie logiczne zapisane w dysjunkcyjnej postaci normalnej.
- Przedstawienie dodatkowych zastosowań omawianego systemu.
- Szczegółowa analiza przygotowania i przebiegu doświadczenia laboratoryjnego na konkretnych przykładach. Przedstawienie schematu pozyskiwania konkretnych cząsteczek DNA, ich przechowywania, namnażania oraz przygotowania dla

konkretnego eksperymentu. Przedstawienie przebiegu możliwego eksperymentu oraz odczytania wyniku końcowego.

- Przedstawienie koncepcji utworzenia „biblioteki łańcuchów DNA”, umożliwiającej przechowywanie, namnażanie i kolejne wykorzystanie uzyskanych cząsteczek dla przyszłych eksperymentów.

Rozprawa ma charakter teoretyczny o dużym nacisku na zagadnienia eksperymentowania charakterystyczne dla laboratorium inżynierii genetycznej. W rezultacie przedstawiono cały zestaw reakcji na DNA implementujących różne prawa rachunku zdań logiki a także została opracowana koncepcja stworzenia i wykorzystania „biblioteki łańcuchów DNA”.

Praca składa się z sześciu rozdziałów, bibliografii oraz dodatku a także spisu rycin i spisu tabel. Pierwsze trzy rozdziały mają charakter kompilacyjny. Ich celem jest ukazanie stanu wiedzy w omawianej dziedzinie. Opisują one wiadomości wstępne z logiki matematycznej i klasycznego rachunku zdań w odniesieniu do prezentowanej koncepcji systemu wnioskującego. Następnie przedstawiono wprowadzenie do obliczeń DNA, rozważając podstawowe modele konstrukcji biokomputerów. Po czym omówione zostały istniejące dotąd koncepcje związane z implementacją logiki i wnioskowania. Zdaniem recenzenta rozdziały wstępne, kompilacyjne są za długie. Można by tutaj częściej odwoływać się do literatury. Ale jak twierdzi Autor, omówione w rozdziale 3 koncepcje miały ważny wpływ i stanowiły inspirację dla powstałego autorskiego systemu wnioskującego, który jest najważniejszym elementem tej pracy. Z drugiej strony rozdziały 1 - 3 porządkują wiedzę na temat obliczeń DNA, z tego względu mają one dużą wartość dydaktyczną.

Największą wartość poznawczą mają rozdziały 4 i 5, gdzie Autor przedstawia swoje koncepcje rozwoju implementacji logiki za pomocą łańcuchów DNA. Podstawowe założenia omawianego podejścia opisane są w rozdziale 4. Doktorant omawia tam kodowanie informacji, wykrycie sprzeczności, działanie systemu wnioskującego, odniesienie do klasycznego rachunku zdań. Z kolei w rozdziale 5 przedstawiona jest analiza rozszerzonego systemu. Rozważone są tam z kolei ograniczenia systemu, funkcje logiczne w postaci kanonicznej, częściowe rozwiązanie SAT, zastosowanie metody dowodu nie-wprost, inne enzymy restrykcyjne i zastosowanie fluorescencji.

2. Czy w rozprawie przeprowadzono w sposób właściwy analizę źródeł (w tym literatury światowej, stanu wiedzy i zastosowań w przemyśle) świadczący o dostatecznej wiedzy autora. Czy wnioski z przeglądu źródeł sformułowano w sposób jasny i przekonujący?

Zamieszczony w rozprawie wykaz publikacji obejmuje 60 pozycji przy czym w pięciu współautorem jest Doktorant. Wśród zamieszczonych w rozprawie pozycji gro z nich dotyczy podstawowych koncepcji obliczeń DNA, poczynając od pierwszej na ten temat publikacji L. Adlemana z roku 1994. W spisie bibliografii zawarto szerokie spektrum publikacji, które pozwala na zaznajomienie się z tą dziedziną czytelnikowi a także zorientować się z aktualnym stanem wiedzy. Temu celowi służą głównie 3 pierwsze rozdziały, gdzie zawarto wprowadzenie do tej tematyki. Z kolei we wstępie rozprawy przedstawiono ogólne tło rozważanych zagadnień. Można powiedzieć jednak, że w sumie w rozprawie za dużo miejsca poświęcono opisowi aktualnego stanu wiedzy w tej dziedzinie (bo aż 58 stron). Można by było bardziej odwoływać się do literatury albo część rozważań kompilacyjnych przenieść do dodatku. Niemniej jednak przedstawione szerokie rozeznanie literaturowe ma także swoje zalety, ponieważ porządkuje literaturę na ten temat a także ma dużą wartość dydaktyczną, gdyż nie są znane tak szerokie ujęcia literatury oraz ocena różnych rozwiązań na temat obliczeń DNA. Z drugiej strony, jak twierdzi Autor, wnikliwe rozeznanie literatury miało ważny wpływ na Jego inspirację dla powstania autorskiego systemu wnioskującego

W związku z powyższym przedstawioną analizę literaturową uznać należy za wyczerpującą. Reasumując należy stwierdzić, że analizę źródeł literatury światowej oraz ogólnego stanu wiedzy przeprowadzono w sposób właściwy. Świadczy ona o dostatecznej wiedzy Doktoranta w rozpatrywanym temacie, a wnioski z przeglądu źródeł sformułowano w sposób jasny i przekonywający.

3. Czy autor rozwiązał postawione zagadnienia, czy użył właściwej do tego metody i czy przyjęte założenia są uzasadnione?

Recenzowana rozprawa zawiera dwa nurty badawcze - teoretyczny i eksperymentalny. Rozdziały 4 i 5 dotyczą rozważań teoretycznych, natomiast części eksperymentalnej poświęcony jest rozdział 6. W części teoretycznej autor rozwiązał postawione zagadnienie a metody i założenia są właściwe. W tym celu posłużył się podstawowymi wiadomościami z dziedziny biologii molekularnej i biochemii. Znając budowę cząsteczki kwasu DNA i podstawowe działania na tych cząsteczkach w laboratorium inżynierii genetycznej poszukiwał odpowiednich reakcji, które można by zinterpretować jako operacje logiczne. Jak wiadomo, łańcuchy DNA odpowiadają ciągom nad cztero-literowym alfabetem (A, C, G, T) i występują w postaci cząsteczek jednoniciowych lub w wyniku reakcji hybrydyzacji - jako dwuniciowe. Istota rozwiązania opracowana przez Doktoranta polega na doborze odpowiednich długości i sekwencji łańcuchów DNA oraz odpowiednich enzymów (restryktazy i ligazy), aby reakcje zachodziły w odpowiednim kierunku i autonomicznie. Należy stwierdzić, że udało Mu się znaleźć bardzo wiele reakcji, które potrafił zinterpretować jako operacje logiczne. W postępowaniu tym posługiwał się licznymi rysunkami, co ułatwia zrozumieć poszczególne fazy procesu wnioskowania logicznego.

Z kolei część eksperymentalna dotycząca potwierdzenia działania zaproponowanych reakcji w laboratorium została dokonana tylko we wstępnej fazie. Doktorant przygotował we współpracy z biologami założenia do przeprowadzenia tych eksperymentów, natomiast same reakcje w laboratorium nie zostały przeprowadzone, co należy uznać za duży mankament tej pracy.

W rozdziale 6 Autor demonstruje także różne przykładowe reakcje, jakie zamierzał przeprowadzić w laboratorium a w tym przygotowanie cząsteczek DNA, polegające na użyciu fragmentów DNA do wklonowania w wektor pJET 1.2. Następnie prezentuje koncepcję utworzenia „biblioteki łańcuchów DNA”.

4. Na czym polega oryginalność rozprawy, co stanowi samodzielny i oryginalny dorobek autora, jaka jest pozycja rozprawy w stosunku do stanu wiedzy czy poziomu techniki reprezentowanych przez literaturę światową?

Oryginalność rozprawy polega na wprowadzeniu odpowiedniego modelu systemu wnioskującego wykorzystującego enzym restrykcyjny *BbvI*, który rozcina dwuniciowe łańcuchy DNA w określony sposób, pozostawiając zawsze „lepkie końce” o długości 4 na nici 3'-5'. Istotą reakcji jest naprzemienne łączenie się i cięcie molekuł z wykorzystaniem ich „lepkich końców”. Działanie systemu przeprowadzane jest w trzech etapach: kodowanie aksjomatów wejściowych oraz zapytań za pomocą odpowiednich molekuł DNA, przeprowadzenie reakcji w probówce, odczytanie wyników za pomocą elektroforezy w żelu. W rezultacie odczytujemy odpowiedź systemu poprzez rozpoznanie pojawiającej się w probówce molekule o konkretnej długości i bez „lepkich końców”.

Do najważniejszych osiągnięć recenzowanej rozprawy należy zaliczyć:

- a) wprowadzenie pojęcia negacji wraz z możliwością wyciągania wniosków również na podstawie literałów o wartości fałszu jak i wniosków o wartości fałszu,
- b) aksjomaty początkowe, wyciągane wnioski czy zapytania do systemu mogą być również w formie koniunkcji czy alternatyw,

- c) w trakcie wnioskowania korzysta się z praw klasycznego rachunku zdań, które są naturalną konsekwencją wprowadzenia spójnika negacji, między innymi wykorzystuje się regułę kontrapozycji czy prawa de Morgana,
- d) jest sygnalizacja o ewentualnym pojawieniu się sprzeczności (czyli równoczesnym wystąpieniu dwóch przeciwnych wartości tego samego zdania atomowego), niezależnie czy wynikała ona z błędnie dobranych aksjomatów początkowych czy powstała w trakcie reakcji, w wyniku kolejnych wnioskowań,
- e) wprowadzenie kilku udoskonaleń związanych z budową cząsteczek użytych w reakcji.

Na osobne omówienie zasługuje rozdział 6, który poświęcony jest symulacji eksperymentów laboratoryjnych. Przedstawiono w nim techniczne szczegóły przygotowania cząsteczek przed właściwą reakcją w laboratorium. Na szczególną uwagę zasługuje tu stworzenie i wykorzystanie przez Autora „biblioteki łańcuchów DNA”.

Przeprowadzenie zamierzonych reakcji w laboratorium inżynierii genetycznej implementujących rozważany tu system wnioskujący zostało skonsultowane z Katedrą Genetyki Molekularnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, z którą od lat współpracuje Katedra Doktoranta w zakresie badań związanych z obliczeniami DNA. Możliwość przeprowadzenia takich badań została potwierdzona przez pracowników tej Katedry.

W odróżnieniu od podobnych prac traktujących o implementacji systemów wnioskujących za pomocą łańcuchów DNA rozszerzony tutaj system wnioskowania zbiera i łączy zalety większości istniejących dotąd koncepcji, a także w możliwie największym stopniu eliminuje ich istotne wady. Ponadto uwzględnia on (jako pierwszy system splatania) prawa klasycznego rachunku zdań i odwołuje się do ich zasad rozumowania matematycznego.

Jednak nie wszystkie prezentowane w rozprawie koncepcje są autorstwa Doktoranta. Czasami wykorzystał On narzędzia innych autorów. Niestety wiele z użytych i zaimplementowanych metod nie zostało porównanych z rozwiązaniami znanymi w literaturze. Z tego powodu trudno jest określić pozycję rozprawy w stosunku do stanu wiedzy reprezentowanego przez literaturę światową.

5. Czy autor wykazał umiejętność poprawnego i przekonującego przedstawienia uzyskanych przez siebie wyników (zwięzłość, jasność, poprawność redakcyjna rozprawy)?

Recenzowana rozprawa liczy 154 strony, z czego zasadnicza część pracy obejmuje 136 stron, natomiast pozostałą część stanowią dodatek oraz spis rycin i spis tabel. Ogólnie praca zredagowana jest w sposób jasny, zwięzły i przejrzysty. Treść rozprawy jest ściśle powiązana z przedmiotem badań. Przyjęty układ treści oraz jej podział pomiędzy rozdziały wydaje się właściwy. Doktorant ma umiejętność poprawnego i przekonującego przedstawiania swoich myśli. Uzasadnienia prowadzące do wyprowadzenia rezultatów różnych koncepcji nie budzą zastrzeżeń. Autor wykazał umiejętność logicznego konstruowania struktury rozprawy i przekonującego przedstawienia uzyskanych przez siebie wyników. Potrafi krótko i syntetycznie omówić złożone zagadnienie, chociaż sama praca jest trochę za długa. Ale wynika to głównie z przeładowania pracy jej treścią.

Podczas czytania pracy nie natrafiono na większe uchybienia redakcyjne. Praca napisana jest poprawnym językiem polskim. Jest ona napisana z dużą starannością edytorską. Wykorzystanie materiału ilustracyjnego jest poprawne. Na uwagę zasługuje także dodatek, gdzie zamieszczono zestaw "lepkich końców" o długości 4, unikalne "lepkie końce" oraz "lepkie końce" komplementarne ze sobą. Informacje te są szczególnie cenne podczas projektowania systemu wnioskującego według metody Autora.

6. Jakie są słabe strony rozprawy oraz jej główne wady?

Do głównych wad/słabości rozprawy należy zaliczyć:

- brak rzeczywistych badań laboratoryjnych, aby przekonać się o praktycznych właściwościach proponowanego systemu wnioskującego,
- rozdział 6 zatytułowany "Symulacja eksperymentów laboratoryjnych" nie stanowi rzeczywistej symulacji,
- brak wyraźnie sformułowanej tezy rozprawy,
- słabe motywacje stojące za rozważaniami dotyczącymi rzeczywistych ograniczeń systemu,
- niewystarczające porównanie proponowanych rozwiązań z już istniejącymi,
- zbyt duża objętość rozprawy.

Najpoważniejszą wadą rozprawy jest nie przeprowadzenie eksperymentów w laboratorium inżynierii genetycznej. Już sam tytuł rozprawy "Implementacja systemu wnioskującego za pomocą DNA" zobowiązuje do podjęcia takich działań laboratoryjnych. Z punktu poznawczego takie badania mogłyby być bardzo interesujące. Autor jednak tłumaczy się, że ze względu na wysokie koszty eksperymentów oraz brak środków finansowych, wbrew początkowym planom, nie udało się przeprowadzić omawianych badań w ramach tej pracy. Omówiona powyżej koncepcja eksperymentów i zastosowanych dodatkowych elementów została natomiast dokładnie skonsultowana z Katedrą Genetyki Molekularnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, która potwierdziła możliwość ich poprawnego wykonania. Autor nadmienia, że w miarę możliwości finansowych, planowana jest praktyczna implementacja omówionych powyżej eksperymentów w przyszłości.

Rozdział 6 miał być pewnego rodzaju alternatywą zamiast eksperymentowania w laboratorium. Natomiast w podpunktach 6.3.1., 6.3.2., 6.3.3. powtarza się reakcje z rozdziału 5. Są to rozważania na wysokim poziomie abstrakcji, gdzie reakcje rozpatruje się na łańcuchach DNA, jak to miało miejsce w poprzednich punktach rozprawy. Ogólnie podpunkt 6.3. nie stanowi symulacji reakcji w laboratorium biochemicznym. Do symulacji laboratoryjnej potrzebne są specjalne pakiety, o których Autor nie wspomina.

Podpunkt 5. 1. "Ograniczenia systemu" mógłby być bardziej rozwinięty. Recenzentowi chodzi o podanie różnych ograniczeń wynikających z warunków rzeczywistych panujących w laboratorium inżynierii genetycznej.

W pracy zamieszczona jest wielka liczba rysunków - bo aż 199. Zdaniem recenzenta większość rysunków mogłaby być przeniesiona do dodatku, co by znacznie zmniejszyło objętość rozprawy. Na rys. 8b oraz rys. 126b znaleziono drobne błędy.

7. Jaka jest przydatność rozprawy dla nauk technicznych?

Tematyka tej pracy jest interesująca i przyszłościowa, gdyż dotyczy biokomputerów, z którymi 20 lat temu wiązano duże nadzieje. Jednak ze względów technologicznych rozwiązania te nie znalazły większego uznania. Nie oznacza to jednak, że tematyka ta wygasła. Pojawiają się różne koncepcje, wnoszące nowe przyczynki do rozwoju tej dziedziny. Tak więc zagadnienia poruszane w tej pracy są jak najbardziej aktualne i mało jeszcze poznane. Urządzenia te otwierają nowy kierunek i perspektywy dla techniki.

Przedstawiony przez Doktoranta system wnioskujący na DNA wskazuje na liczne praktyczne zastosowania tej koncepcji w kierunku rozwoju biokomputerów. Obecna wersja rozprawy pozostawia jednak pewien niedosyt w zakresie powyższych zagadnień.

Reasumując można stwierdzić, że tematyka ta jest więc bardzo interesująca, szeroka oraz otwarta, a zarazem mało jeszcze poznana i wymaga wobec tego współpracy badaczy z różnych kierunków naukowych a zwłaszcza informatyki, logiki, biologii, biochemii,

elektroniki. Dlatego wszelkie badania w tej dziedzinie mogą mieć dużą przydatność dla nauk technicznych i powinny być dalej kontynuowane.

Do której z następujących kategorii recenzent zalicza rozprawę:

- (a) nie spełniająca wymagań stawianych rozprawom doktorskim przez obowiązujące przepisy
- (b) wymagająca wprowadzenia poprawek i ponownego recenzowania
- (c) spełniająca wymagania
- (d) spełniająca wymagania z wyraźnym nadmiarem
- (e) wybitnie dobra, zasługująca na wyróżnienie.

Recenzent zalicza rozprawę do kategorii (c), a więc spełniającej wymagania.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'J. Kubacki', is located in the lower right quadrant of the page.