



Kraków, 29.05.2015

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Magdaleny A. Mozolewskiej

zatytułowanej: „Modelowanie teoretyczne białek i ich oddziaływań na różnych poziomach rozdzielczości na przykładzie przewidywania struktury białek oraz wybranych procesów biochemicznych”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska bardzo dobrze wpisuje się w jeden z głównych nurtów współczesnej biologii strukturalnej, który stanowią badania obliczeniowe prowadzone w rozdzielczości sub-molekularnej nad procesami biochemicznymi i biofizycznymi. Mimo, iż w ostatnich latach wyraźnie widoczny jest ogromny postęp w technikach doświadczalnych, które dają możliwość wyznaczenia struktury przestrzennej makromolekuł oraz ich kompleksów, metody symulacyjne, które są równie prędko rozwijane i udoskonalane, a których obszar zastosowań nieustannie wzrasta ze wzrostem dostępnych mocy obliczeniowych, zyskały równoprawny status z metodami eksperymentalnymi. W tym miejscu należy zaznaczyć, że dla części zjawisk i procesów metody obliczeniowe na długo pozostaną jedynymi praktycznymi technikami pozwalającymi na uzyskanie wglądu w ich przebieg.

### Rozważania ogólne

Praca pani mgr Magdaleny Mozolewskiej została wykonana w Pracowni Modelowania Molekularnego w Katedrze Chemii Teoretycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, pod kierownictwem Pana prof. dr. hab. Adama Liwo z udziałem promotora pomocniczego – Pani dr Magdaleny Ślusarz. Praca ma charakter badań podstawowych, przy czym wyniki badań teoretycznych wykonanych przez doktorantkę są często odnoszone do danych doświadczalnych, co zdecydowanie podnosi ich wiarygodność, i przez to wartość naukową. Celami pracy było: 1) przetestowanie zdolności gruboziarnistego pola sił UNRES do przewidywania struktury białek, 2) zbadanie oddziaływania między białkami zaangażowanymi w proces przenoszenia klastrów żelazowo-siarkowych, oraz 3) zbadanie oddziaływań białek z ligandami niebiałkowymi, tj. receptora oksytocyny z analogami





oksytocyny oraz receptorów Toll-like z nanorurkami węglowymi. Różnorodność badanych problemów podyktowała dobór odpowiednich metod obliczeniowych zastosowanych do ich rozwiązania. W przypadku celu pierwszego, były to symulacje dynamiki molekularnej z wielowarstwową wymianą replik z wykorzystaniem gruboziarnistego pola sił UNRES, które jest rozwijane w grupie prof. A. Liwo. W podejściu do celu drugiego zastosowano modelowanie homologiczne, kanoniczną symulację dynamiki molekularnej z użyciem pełnoatomowego pola sił, symulacje dokowania molekularnego oraz symulacje dynamiki molekularnej z wykorzystaniem gruboziarnistego pola sił UNRES. W badaniach nad kompleksami białko-ligand niebiałkowy doktorantka wykorzystwała metody modelowania homologicznego, symulacje w pełnoatomowym polu sił, dokowanie molekularne, symulowane wyżarzanie oraz symulacje kierowanej dynamiki molekularnej. Wszystkie te metody teoretyczne zostały omówione, na adekwatnym poziomie szczegółowości, w rozdziale szóstym, gdzie zawarty został również wstęp poświęcony białkom, ich zwijaniu, oddziaływaniu z ligandami niskocząsteczkowymi i nanocząstkami, białkom opiekuńczym oraz receptorom sprzężonym z białkiem G. Układ rozdziałów jest naturalny, proporcje pomiędzy częścią teoretyczną (53 strony) a opisem badań własnych (40 stron) zachowane, a cała praca napisana jest w sposób bardzo przejrzysty.

Wyniki badań własnych zostały opisane w czterech podrozdziałach rozdziału siódmego, poświęconych następującym zagadnieniom:

- Przewidywaniu struktur białek na podstawie ich sekwencji aminokwasowej z wykorzystaniem pola sił UNRES (w eksperymencie CASP10),
- Modelowaniu struktur kompleksów białek Isu1-Jac1 oraz Isu1-Jac1-Ssq1,
- Modelowaniu oddziaływań między receptorem oksytocyny a analogami oksytocyny,
- Modelowaniu oddziaływań receptorów z nanorurkami węglowymi.

Większość podrozdziałów kończy się krótkimi podsumowaniami wyników oraz najważniejszymi wnioskami. Zbiorczo wszystkie badania własne są podsumowane w krótkim (2 strony) rozdziale ósmym, gdzie wyakcentowano pozytywne wyniki badań. Brakuje mi jednakże krytycznej analizy uzyskanych wyników, gdzie Autorka dyskutowałaby możliwe źródła problemów oraz przyszłe próby ich rozwiązania. Zauważanie niedoskonałości stosowanych metod/modeli jest pierwszym, niezbędnym, krokiem w kierunku ich poprawy. Pomimo tego drobnego braku, bardzo wysoko oceniam poziom naukowy przeprowadzonych badań, ich niezwykle szeroki zakres oraz sposób ich prezentacji w rozprawie. Za zasługujące na szczególne podkreślenie uważam rezultaty uzyskane w eksperymentach CASP, oraz w bardziej autorskim projekcie doktorantki dotyczącym modelowania struktury kompleksów białkowych pełniących kluczową rolę w biosyntezie klastrów żelazowo-siarkowych.



## Uwagi szczegółowe

We wstępnej części mojej recenzji podkreśliłem już moją wysoką ocenę recenzowanej rozprawy doktorskiej i zawartych w niej nowych wyników dla interesujących układów, jednakże do niewątpliwych obowiązków recenzenta należy także szczegółowe wypunktowanie słabszych stron czy niedokładności rozprawy. Kolejne nieścisłości, przeszkadzające w dobrej percepcji pracy, omówię w kolejności rozdziałów. Nie będę tu oczywiście wymieniał literówek, powtórzeń, niespójności gramatycznych i prostych przejęzyczeń, które jednak nie burzą sensu wypowiedzi.

- Str. 12, kategoryczność stwierdzenia, iż „[białka] są biomolekułami o ... największym znaczeniu w procesach biochemicznych” jest nieco kontrowersyjna, gdyż to kwasy nukleinowe są nośnikami informacji genetycznej
- Str. 21, „Centra żelazowo-siarkowe posiadają bardzo zróżnicowaną budowę, a najprostsze centrum składa się z **jednego jonu** żelaza połączonego z czterema resztami cysteiny i dwoma mostkującymi jonami siarczkowymi”, tutaj „jednego jonu” najprawdopodobniej powinno być zastąpione przez „dwóch jonów”
- Str. 40, stwierdzenie „zespół kanoniczny, który **wymienia temperaturę** z otoczeniem ...” jest skrótem myślowym, gdyż wymianie podlega energia na sposób ciepła
- Str. 41, we wzorze (5) brak symbolu temperatury (T)
- Str. 53, znaczenie macierzy **A** we wzorze (21) nie zostało wytłumaczone, podobnie znaczenie parametru  $\alpha$  we wzorze (23) na stronie następnej
- Str. 91, nie do końca zrozumiałe jest zdanie „Jest on [klaster] najliczniejszym z otrzymanych, posiada również najbardziej prawdopodobną strukturę, **zgodną z danymi eksperymentalnymi.**” O jakie dane doświadczalne chodzi, czy nie te, które były częścią danych wejściowych dla serwera HADDOCK? Jeśli tak, to czy nie jest naturalnym, że taką zgodność się obserwuje?
- Str. 99, Rysunek 28, wartości pracy związanej z wysunięciem ligandów z kieszeni wiążącej receptora oksytocyny są bardzo duże, co najmniej o rząd wielkości za duże, jeśli miałyby być przybliżeniem do  $\Delta G$  reakcji dysocjacji. Tutaj byłaby bardzo wskazana dyskusja nad możliwymi źródłami tego przeszacowania oraz ewentualnymi



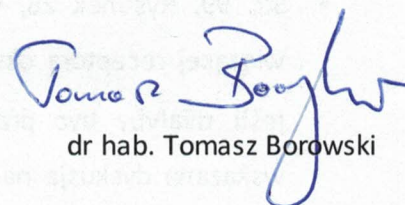
drogami do jego zmniejszenia. Co więcej, różnice w pracach obliczonych dla trzech badanych ligandów są bardzo wyraźne, podczas gdy powinowactwa zmierzone *in vitro* (Tabela 3, str. 101) są dużo mniej zróżnicowane. Czy można postawić jakąś hipotezę tłumaczącą tę różnicę?

- Str. 105, w podpisie do i na Rysunku 33 jednostki podane dla pracy i siły mają o  $\text{\AA}^{-1}$  za dużo.

### Ocena końcowa

Przedstawione powyżej nieliczne uwagi krytyczne, dotyczące raczej pewnych niedomówień i nieścisłości terminologicznych, chociaż istotne ze względu na czystość i jasność sformułowań oraz dobre rozumienie meritum, nie umniejszają mojej wysokiej oceny recenzowanej rozprawy. Uważam że należy w recenzji podkreślić, że dorobek publikacyjny doktorantki jest spory: 5 prac w czasopismach z listy filadelfijskiej, 1 rozdział w książce, 2 prace w czasopismach anglojęzycznych spoza listy filadelfijskiej, 2 prace wysłane do redakcji, 3 prace w przygotowaniu. Recenzowana rozprawa doktorska obejmuje w dużej mierze niezależne podrozdziały, spięte jednak wspólną klamrą, z których większość oparta jest na wynikach już opublikowanych w czasopismach międzynarodowych (2 prace z listy filadelfijskiej, jedna spoza). Tak więc jakość rozważań teoretycznych została już niezależnie pozytywnie oceniona przez recenzentów czasopism o uznanej reputacji międzynarodowej, co dodatkowo stanowi o wartości tej rozprawy.

**Uważam wobec tego, że rozprawa przedstawiona przez Panią mgr Magdalenę Mozolewską spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim przez Ustawę z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz z przyjemnością wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Magdaleny Mozolewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

  
dr hab. Tomasz Borowski