



UNIWERSYTET
WARSZAWSKI

Wydział Chemii



Warszawa, dnia 22 października 2018 r.

Dr hab. Sebastian Kmiecik
Wydział Chemii,
Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych,
Uniwersytet Warszawski,
Pasteura 1, Warszawa
email: sekmi@chem.uw.edu.pl

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Lipskiej pt.: „Badanie struktury i dynamiki wybranych białek metodą symulacji gruboziarnistych” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Józefa Liwo oraz promotora pomocniczego dra Adama Sieradzana.

Recenzowana praca ma charakter interdyscyplinarny i obejmuje tematykę z pogranicza chemii i biologii obliczeniowej oraz biologii molekularnej. Jej przedmiotem jest zastosowanie gruboziarnistego modelu białek UNRES do symulacji wybranych układów biologicznych. Wykonane symulacje pozwoliły na przeprowadzenie testów nowych wersji modelu UNRES w zastosowaniu do modelowania dynamiki białek, jak i przewidywania struktury białek. Model UNRES jest unikalnym podejściem do modelowania białek, rozwijanym przez grupę badawczą Profesora Adama Liwo. Grupa ta, od wielu lat, jest jedną z wiodących na świecie w dziedzinie gruboziarnistego i wieloskalowego modelowania białek. Co ważne, model UNRES jest podstawowym elementem wieloskalowej procedury modelowania, która pozwala na uszczegółowienie otrzymanych modeli białek do rozdzielczości pełnoatomowej. Takie wieloskalowe podejście ma potencjalnie wiele praktycznych zastosowań w biologii i medycynie.

Rozprawa doktorska mgr Agnieszki Lipskiej składa się kolejno z: wykazu skrótów użytych w pracy, wstępu, w którym krótko podaje cel pracy, części teoretycznej, w której wyczerpująco omawia zagadnienia związane ze strukturą i dynamiką białek, metod teoretycznych do ich badania ze szczególnym uwzględnieniem modelu UNRES oraz jego rozszerzeń stosowanych w pracy, omówienia wyników, podsumowania, spisu literatury zawierającego 192 pozycje oraz załącznika w postaci 3 publikacji Autorki. Na publikacje składają się 3 prace oryginalne, już opublikowane w uznanych

branżowych czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *Journal of Molecular Modeling*, *Journal of Chemical Physics* oraz *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. Wszystkie załączone publikacje są wieloautorskie. Kolejność autorów publikacji (pierwszy autor w dwóch publikacjach, drugi autor w jednej) wskazuje, że mgr Agnieszka Lipska miała w każdej publikacji dominujący lub istotny wkład.

Wyniki prac Autorki przedstawione w Rozdziale 4 oraz w dołączonych publikacjach można podsumować następująco:

1. Przeprowadzenie symulacji zmian konformacyjnych białka wiążącego argininę (TmArgBP) i zbadanie wpływu wiązania argininy na dynamikę białka. Poznanie dynamiki tego białka i mechanizmów wiązania argininy na poziomie molekularnym jest bardzo interesujące ze względu na potencjalne zastosowania w medycynie i biotechnologii. Autorka przeprowadziła symulacje w 16 różnych konfiguracjach, w tym w dwóch temperaturach i zaczynając od tzw. zamkniętej lub otwartej konformacji białka. Przedstawiona szeroka analiza wskazuje, że wiązanie argininy przez białko faworyzuje konformację zamkniętą, co jest zgodne z danymi doświadczalnymi. Stwierdzono również osłabienie tej zależności w symulacjach wykonanych w wyższej temperaturze.
2. Przeprowadzenie symulacji zwiłania dwóch małych białek (domeny B białka A i domeny WW) i zbadanie wpływu oddziaływań hydrodynamicznych na dynamikę białek. Oddziaływania tego typu są często nieuwzględniane w symulacjach molekularnych, a mogą mieć znaczący wpływ na ścieżkę zwiłania białek. Wykonane symulacje mają charakter nowatorski i testują nową wersję modelu UNRES uwzględniającą oddziaływania hydrodynamiczne. Autorka wykonała szereg symulacji dynamiki molekularnej przy zastosowaniu formalizmu Langevina dla 2 białek, każde w 2 różnych temperaturach oraz porównała otrzymane wyniki dla symulacji bez uwzględniania oddziaływań hydrodynamicznych. Przedstawiona szeroka analiza wskazuje, że wprowadzenie oddziaływań hydrodynamicznych powoduje spowolnienie procesu zwiłania oraz nie wpływa na wygląd przejściowych konformacji zwiłania. Zaobserwowanie spowolnienia jest ciekawe w kontekście innych badań wykonanych przez innych autorów przy użyciu tzw. modelu Go (Frembgen-Kesner i Elcock 2009), gdzie zaobserwowano przyśpieszenie procesu zwiłania. Wykonane przez Autorkę symulacje są jednak bardziej realistyczne, ponieważ w

odróżnieniu od modeli Go uwzględniają oddziaływania, które nie występują w zwiniętych formach badanych białek, a mogą występować w przejściowych konformacjach białek.

3. Przeprowadzenie przewidywania struktury białek i zbadanie wpływu efektu ekranowania na otrzymane wyniki. W ramach eksperymentu CASP12, autorka wykonała symulacje zwijania dla 11 białek przy użyciu nowej wersji modelu UNRES z wprowadzonym efektem ekranowania. Celem Autorki pracy było przetestowanie nowej wersji modelu UNRES na tle wersji modelu UNRES bez efektu ekranowania oraz innych grup startujących w eksperymencie CASP12. Przedstawione predykcje są średniej lub niskiej rozdzielczości (jedynie w przypadku fragmentów wybranych modeli można mówić o wysokiej rozdzielczości, poniżej 3 Angstromów). Używając miary GDT_TS (charakteryzującej podobieństwo porównywanych struktur białek) Autorka wykazała, że modele pochodzące z symulacji uwzględniających efekt ekranowania charakteryzują się nieco lepszą zgodnością ze strukturami eksperymentalnymi, niż te bez uwzględnienia efektu ekranowania.

Uzyskane wyniki, szczególnie te dotyczące badania wpływu oddziaływań hydrodynamicznych uważam za niezwykle wartościowe, jednak nasuwają mi się następujące pytania i uwagi:

1. W pierwszej pracy dotyczącej zmian konformacyjnych białka wiążącego argininę, Autorka wskazuje na niepewność otrzymanych wyników ze względu na gruboziarnistą rozdzielczość użytego modelu. Sugeruje także, że bardziej szczegółowa reprezentacja systemu (np. przy użyciu hybrydowego modelu: gruboziarnistego i pełnoatomowego) mogłaby być pomocna w odpowiedzi na stawiane pytania dotyczące mechanizmu wiązania argininy w różnych temperaturach. Czy Autorka mogłaby oszacować i porównać koszty obliczeniowe różnych metod symulacji w zastosowaniu do badanego układu: wspomnianej hybrydowej symulacji (jak miałyby wyglądać przykładowy przepis na taką hybrydową symulację?), symulacji w rozdzielczości pełnoatomowej przy użyciu klasycznej dynamiki molekularnej oraz wykonanych w pracy gruboziarnistych symulacji. Takie oszacowanie potencjalnych zysków i kosztów symulacji wydaje mi się bardzo interesujące dla czytelników pracy.
2. W drugiej pracy dotyczącej wpływu oddziaływań hydrodynamicznych Autorka sugeruje, że użyty model oddziaływań może być bardziej odpowiedni do badania większych układów niż te

w pracy. Czy Autorka mogłaby się pokusić o bardziej szczegółowe rekomendacje dla szerokiego grona użytkowników modelu UNRES, w jakich przypadkach używać wersji z oddziaływaniami hydrodynamicznymi, a w jakich nie i dlaczego?

3. W trzeciej pracy dotyczącej wpływu efektu ekranowania na skuteczność przewidywania struktur białek pojawia się stwierdzenie, że uwzględnienie tego efektu wyraźnie poprawia zgodność symulowanych struktur białek ze strukturami eksperymentalnymi. Mam wątpliwość, czy można mówić o wyraźnej poprawie i wiarygodnej weryfikacji metody biorąc pod uwagę niskie wartości parametru GDT_TS porównywanych modeli, oraz niedoskonałość tego parametru (patrz praca „Estimation of Uncertainties in the Global Distance Test (GDT_TS) for CASP Models”, doi: 10.1371/journal.pone.0154786).

Moja inna bardzo drobna uwaga dotyczy języka pracy – Autorka nie ustrzegła się literówek i błędów językowych (patrz na przykład strona 10: „... strukturami białek np. poznawania jego” zamiast „ich” oraz niejasny sens zdania: „Liczba domen w białku może wahać się od jednej do kilkadziesiątu, ponadto nie musi być ona zbudowana z reszt aminokwasowych występujących kolejno w sekwencji”). Jednak ogólnie język pracy oraz układ treści oceniam bardzo dobrze. Praca jest napisana jasno i starannie.

Przedstawione wyżej przeze mnie uwagi i pytania mają na celu poznanie poglądów Autorki na przedstawione zagadnienia i zapoczątkowanie interesującej dyskusji na obronie rozprawy. Uwagi te, moim zdaniem, nie umniejszają w żadnym stopniu wysokiej wartości rozprawy.

Przechodząc do ogólnej oceny recenzowanej rozprawy mgr Agnieszki Lipskiej stwierdzam, że wnosi ona nowatorski i istotny wkład w rozwój metody UNRES, a tym samym w rozwój ważnej dla nauk biomedycznych dziedziny modelowania wieloskalowego. Przedstawione w rozprawie wyniki dostarczyły wielu informacji o różnych, naukowo bardzo ciekawych podejściach do symulacji białek i pozwalają na wytyczanie nowych kierunków ich rozwoju. Rozprawa dowodzi również dużego wkładu pracy Autorki, jej umiejętności radzenia sobie z trudnymi problemami naukowymi i ogromnej wiedzy w dziedzinie biofizyki, biochemii oraz modelowania molekularnego białek.

Biorąc pod uwagę przedstawioną rozprawę doktorską, ale również bogate doświadczenie naukowe mgr Agnieszki Lipskiej (kierowanie grantami badawczymi, współautorstwo niewymienionych

w rozprawie publikacji w uznanych czasopismach naukowych, aktywne uczestnictwo w licznych konferencjach międzynarodowych, naukowe staże zagraniczne w prestiżowych placówkach naukowych w USA i Korei), jestem przekonany, że Autorka pracy jest doskonale przygotowana do samodzielnej pracy naukowej w zakresie rozwoju i wykorzystania metod modelowania molekularnego we wspomaganie badań z dziedziny biologii i medycyny.

Podsumowując, uważam, że przedstawiona rozprawa spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie o stopniach i tytułach naukowych i wnoszę o dopuszczenie mgr Agnieszki Lipskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Sebastian Kmiecik