

**Prof. dr hab. inż. Maciej Bagiński**  
Katedra Technologii Leków i Biochemii  
Wydział Chemiczny  
Politechnika Gdańska  
Ul. Narutowicza 11/12  
80-233 Gdańsk, Polska  
Tel.: (58) 347 15 96  
Fax: (+48) (58) 347 11 44  
e-mail: chemmbag@pg.edu.pl



**POLITECHNIKA  
GDAŃSKA**

---

Gdańsk 31.08.2022 r.

**Recenzja pracy doktorskiej  
Mgr. Karoliny Zięby**

**Pt.:**

**Badanie oddziaływań hydrofobowych i lokalnych w modelowych układach oraz białkach.**

Przedstawiona do recenzji praca stanowi omówienie i dyskusję wyników badań prowadzonych przez mgr. Ziębę w Pracowni Symulacji Polimerów w Katedrze Chemii Teoretycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Promotorem pracy jest prof. dr hab. Cezary Czaplewski, a promotorem pomocniczym dr Magdalena Ślusarz. Cel pracy był wielowątkowy i obejmował wykonanie szeregu obliczeń symulacyjnych dla układów modelowych i białkowych oprogramowaniem głównie UNRES opartym na gruboziarnistym polu siłowym o tej samej nazwie rozwijanym w zespole prof. A. Liwo i prof. H. Scheragi. W rozwijaniu tego pola uczestniczą też inne osoby z Uniwersytetu Gdańskiego. Celem tych symulacji było sensu largo testowanie i rozwijanie tego pola siłowego, a więc praca ma znaczący charakter metodyczny. Warto na samym początku nadmienić, że wszystkie cząstkowe cele pracy zostały w pełni osiągnięte, a otrzymane wyniki pozwoliły na lepsze zrozumienie roli oddziaływań hydrofobowych i lokalnych w procesach związania białek oraz ich zmian konformacyjnych. Należy też odnotować, iż wyniki przedstawione w pracy doktorskiej pani Zięby zostały opublikowane w rozpoznawalnych czasopismach, przeszły proces oceny recenzenckiej, co świadczy o ich znacznej wartości.

Prowadzone przez Doktorantkę badania mieszczą się w szeroko pojętym obszarze badań podstawowych oddziaływań wewnątrz i międzycząsteczkowych, a w szczególności oddziaływań hydrofobowych i dotyczą testowania różnych prostych teoretycznych i bardziej złożonych modeli o znaczeniu biologicznym. Prowadzenie takich symulacji białek i dobieranie w nich odpowiednich parametrów związanych z polami siłowymi czy też z technologią numeryczną obliczeń jak też tworzenie nowych tego typu parametrów czy też ich zestawów pozwalają udoskonalać pola siłowe i zdobywać doświadczenie numeryczne, które może być następnie wykorzystywane dla innych podobnych systemów i środowisk symulacyjnych. Prace takie mają duże znaczenie poznawcze i praktyczne ponieważ wciąż badania eksperymentalne struktur białkowych obejmują jedynie niewielki zakres wszystkich znanych białek (to znaczy znanych sekwencji). Dlatego też badania teoretyczne i symulacje właściwości termodynamicznych takich systemów pozwalają na poszerzenie naszej wiedzy na temat białek, których struktury nie są jeszcze poznane a ich biologiczne funkcje są istotne.



Wielowątkowość celów pracy obejmowała:

- a) badania hydratacji i oddziaływań hydrofobowych w prostych modelowych układach (cząstki Lenarda-Jonesa oraz pseudootwarte kule Mie) w celu lepszego zrozumienia tych efektów w dużych układach
- b) opracowanie parametryzacji dla gruboziarnistego pola siłowego UNRES dla białek w środowisku lipidowym i wprowadzenie nowego podziału reszt aminokwasowych (rozszerzenie parametryzacji na 5 lokalnych typów reszt aminokwasowych)
- c) wykonanie szeregu symulacji predykcyjnych różnych białek w ramach eksperymentu CASP z użyciem pola sił UNRES i w kombinacji z modelowaniem homologicznym i modelami serwerowymi

Analizując zarówno cele pracy jak i wyniki na szczególne podkreślenie zasługuje element nowości naukowej zaprezentowany w pracy. Otóż Autorka realizując poszczególne wątki otrzymywała wyniki, które wnoszą nową wiedzę w zakresie oddziaływań hydrofobowych, rozszerzyła zastosowanie pola sił UNRES dla białek w środowisku lipidowym i przetestowała nowe podejście metodyczne z użyciem tego pola do przewidywania struktury białek w ramach kolejnego XIII eksperymentu CASP. Wyniki tych prac zostały opublikowane co jedynie potwierdza, że stanowią one nowość naukową. Sama autorka w trzech artykułach jest pierwszym autorem co świadczy o jej znaczącym udziale w prowadzonych badaniach.

#### **Układ pracy:**

Praca ma klasyczny układ stosowany w pracach o charakterze „teoretycznym” z pewnymi modyfikacjami i zawiera streszczenie, spis skrótów, cel pracy, przegląd literaturowy (czyli niejako wstęp teoretyczny), metodologię obliczeń oraz rozdział omawiający wyniki po którym znajduje się podsumowanie i spis literatury. Praca zawiera również informację o dorobku naukowym autorski i suplement zawierający publikacje. Taki układ ma swoje wady i zalety. Przyznam, że czytelnikowi łatwiej jest czytać i zrozumieć cel pracy po części teoretycznej, a nie odwrotnie.

Na wyróżnienie zasługuje część teoretyczna, która stanowi wyczerpujące kompendium wiedzy na temat struktury białek, oddziaływań i metod obliczeniowych. Szczególnie rozdziały poświęcone metodom obliczeniowym są dobrze napisane i przedstawiają nie tylko same metody od strony teoretycznej, ale też oprogramowanie i metody analizy danych. Wszystkie te zagadnienia są bardzo przystępnie i bardzo merytorycznie przedstawione. Wszystkie opisy są poparte wieloma cytowaniami literaturowymi co świadczy o dobrej znajomości opisywanych zagadnień, często trudnych, przez Doktorantkę. Taki przejrzysty i przystępny opis teoretyczny pozwala przygotować czytelnika do zrozumienia zagadnień przedstawianych w części wynikowej. Przegląd literaturowy i analiza danych w dziedzinie objętej badaniami jest wnikliwa i ściśle związana z poszczególnymi zagadnieniami podejmowanymi w pracy doktorskiej.

W części wynikowej Doktorantka bardzo merytorycznie przedstawia swoje wyniki badań z podziałem na wątki o jakich wspominałam powyżej przedstawiając cele pracy. Każdy z takich podrozdziałów kończy się krótkim podsumowaniem. Otrzymane wyniki w przypadku wątków a) i c) w wielu przypadkach zgadzały się z danymi doświadczalnymi co potwierdza, że użyte przez Doktorantkę podejścia mogą być stosowane dla innych układów. W szczególności symulacje zwijania białek w ramach eksperymentu CASP są dyskutowane pod względem rozbieżności modeli predykcyjnych z eksperymentalnymi strukturami. Otrzymane struktury były dobrej jakości co potwierdza, że użyte podejście jest produktywnie.



Taka analiza wyników jest wartościowa i pozwala na udoskonalanie metod, w tym wypadku programu UNRES i jego kombinacji z innymi metodami w celu zastosowania do innych układów. W przypadku wątku b) otrzymana nowa parametryzacja pozwala stosować pole siłowe UNRES do obliczania właściwości termodynamicznych i strukturalnych białek w błonach lipidowych. Jest to duży krok na przód w rozwoju oprogramowania UNRES, gdyż symulacje układów błonowych są bardzo ważne z punktu widzenia zastosowań biologicznych. Wiele bowiem ważnych dla funkcjonowania komórki białek jest białkami błonowymi.

Końcowym rozdziałem jest podsumowanie całości pracy które jest dość zwięzłe. Kończąc ogólne przedstawienie pracy poniżej przedstawiam swoje uwagi mniej lub bardziej krytyczne, które z obowiązku recenzenta muszę przywołać.

### **Uwagi i komentarze ogólne:**

Myślę, iż nie będę odosobniony w opinii stwierdzając, że praca jest trudna zarówno na jej przedmiot, czyli różne skomplikowane badane systemy, jak też cały aparat metodyczny doskonale przedstawiony i zaadaptowany przez Doktorantkę do opisu tych systemów. Praca w dużej mierze dotyczy parametryzacji i zastosowania pola sił i programu UNRES, które nie jest znane zbyt szerokiej rzeszy badaczy, ale jest wartościowe i jest skutecznie rozwijane. Zdobywa też ono co raz większą liczbę zwolenników. Z tego też względu, mimo iż symulacje białek są dość powszechne, praca jest dość hermetyczna ale mimo to Doktorantce bardzo dobrze udało się przedstawić najważniejsze elementy podejść teoretycznych i stosowanych modeli wraz z opisem różnych stosowanych parametrów. Do metodycznej części pracy i takiego przedstawienia nie mam jako recenzent zastrzeżeń. Natomiast zabrakło mi w pracy jasnego wytłumaczenia jej wielowątkowości celów i przedstawienia elementów spójności. UNRES jako pole siłowe może być takim elementem ale nie zostało to wystarczająco wyeksponowane. Czytelnik bez takiego uzasadnienia spójności może odnosić po części wrażenie, że praca przedstawia trochę oderwane od siebie obszary czy też obiekty badawcze.

Z obowiązku recenzenta chciałbym także zwrócić uwagę, że czasami czytając pracę nie wszędzie opisy i przedstawianie wyników były w pełni poprawne. Stąd też poniżej przedstawiam kilka uwag mniej lub bardziej szczegółowych wymagających komentarza. Na końcu zaś przedstawiam kilka uwag w zakresie edytorskim pracy.

### **Uwagi i komentarze szczegółowe:**

#### *Streszczenie:*

Bardziej poprawne byłoby przedstawienie w streszczeniu wyników w takiej kolejności w jakiej są przedstawione w samej pracy, czyli modelowe układy jako pierwsze a parametryzacja i eksperyment CASP jako kolejne.

#### *Cel pracy:*

W celu pracy, w drugiej jego części Doktoranta przedstawia czy też opisuje wyniki, a nie to co było celem pracy. Ze względu też na wielowątkowość pracy opis celu mógłby być bardziej rozbudowany i być może przedstawiony w formie wypunktowanej tak jak to zrobiłem w swojej recenzji. Tutaj też warto byłoby pokusić się o lepsze uzasadnienie tej wielowątkowości pracy.

#### *Wstęp teoretyczny:*

Str. 11. Zdanie „Każda z wyżej wymienionych grup białek może tworzyć struktury odznaczające się różnym stopniem rzędowości” jest dość niefortunne, gdyż raczej nie mówi się, że dane białko tworzy strukturę I-rzędową. Ono raczej posiada taką strukturę.



Str. 13. Używanie określenia, iż wykresy czy też mapy Ramachandrana służą do oceny stereochemicznej struktur białek też jest trochę niefortunne. Owszem oryginalnie w pracy sam Ramachandran użył takiego określenia ale było to w 1963 r. i trzeba pamiętać że „stereostruktura” wtedy oznaczała strukturę przestrzenną. Ze względu na to, że przedrostek „stereo” ma dzisiaj też inne znaczenia lepiej jest nie stosować go w połączeniu z mapami Ramachandrana.

Str. 17. Opis mostków siarczkowych jest niepoprawny. W zdaniu „Wiązania te występują między łańcuchami bocznymi cysteinowych reszt aminokwasowych białek położonych blisko siebie w przestrzeni” chyba powinno być zamiast białek to łańcuchów danego białka?

Str. 20/21. Opis oddziaływań lokalnych jest delikatnie mówiąc dość nieprecyzyjny i zbyt zawiły. Używanie też takich skrótów myślowych, że minimum energetyczne przesuwają się jest zbyt ogólnikowe.

Str. 31. Doktorantka napisała, że dla zadanych parametrów pola sił symulowane są nowe zespoły konformacyjne. Nie jest to precyzyjne gdyż nie podano jakie parametry pola sił były brane pod uwagę w tej optymalizacji.

Str. 35. Symulacje dynamiki molekularnej mogą być prowadzone w różnych zespołach statystycznych odzwierciedlających warunki panujące w badanym układzie, ale Doktorantka nie przedstawia/wymienia tych zespołów.

Str. 36/37. Bardziej poprawnie o parametrze  $\sigma_{ij}$  w równaniu 5.5.1a byłoby powiedzieć, że jest to odległość cząstek dla której wartość potencjału LJ jest równa zero i że definiuje on promień van der Waalsa.

#### *Badania własne:*

Str. 85. Nie jest dobrze wyjaśnione dlaczego stosowano krok czasowy 0.498 femtosekundy w obliczeniach. Skąd wynika taka wartość?

Str. 88. Rys. 44 jest nieczytelny gdyż linia czarna i niebieska chyba się pokrywają.

Str. 93. Nie do końca wiadomo skąd wynikał nowy podział na 5 grup aminokwasów. Jakiego założenia aby zastosować taki podział?

#### *Podsumowanie i wnioski:*

Str. 107. W punktach 1-4 Doktorantka przedstawiła skrótowo rezultaty poszczególnych etapów badań, ale w sumie przedstawia ona jedynie wyniki i wskazuje na ich zgodność z doświadczeniem. Nie stara się jednak przedstawić jakie to ma znaczenie czy dla stosowania podobnych podejść czy też dla zrozumienia pewnych efektów na poziomie molekularnym. Punkty te raczej przedstawiają podsumowanie ale nie wnioski.

#### **Uwagi edytorskie:**

Praca jest napisana przystępnym i poprawnym językiem i właściwie nie mam poważniejszych uwag edytorskich z wyjątkiem trzech:

- Najistotniejszą uwagą jest moja obserwacja, że wiele rysunków i tabel zawartych w pracy nie jest jak to się mówi samo objaśniających się. Aby je zrozumieć trzeba sięgnąć do tekstu pracy gdzie znajdują się opisy symboli i ich znaczenie. Nie jest to typowa praktyka i na pewno nie jest stosowana w publikacjach naukowych w czasopiśmie.

- Praca zawiera dwa razy stronę nr 50.

- W spisie literatury poz. 36 ma niespójny format z pozostałymi pozycjami.

#### **Podsumowanie:**

Pomimo moich pewnych uwag krytycznych przedstawionych powyżej, z których część ma jedynie charakter dyskusji naukowej lub uwag korekcyjnych, bardzo wysoko oceniam przedstawioną mi do recenzji pracę Pani mgr. Karoliny Zięby pt.: „Badanie oddziaływań



hydrofobowych i lokalnych w modelowych układach oraz białkach.” Zwłaszcza obszerny zakres pracy numerycznej, nowatorskie podejście i pracowitość zasługują na wysoką ocenę. Sama praca stanowi dokumentację oryginalnych badań prowadzonych przez Doktorantkę o wysokich walorach naukowych. Wyniki tej pracy zostały też opublikowane w rozpoznawalnych czasopismach z list JCR.

Moim zdaniem praca doktorska Pani Karoliny Zięby całkowicie spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w Ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Praca wskazuje także, że Doktorantka posiada dużą wiedzę teoretyczną w dziedzinie Chemii Obliczeniowej, w szczególności w zakresie metod symulacyjnych białek. W toku realizacji pracy wykazała Ona również umiejętność samodzielnego prowadzenia skomplikowanych badań naukowych i ich dokumentowania. Z podanych wyżej względów wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych UG o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Zięby do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Marij Bazjarski*