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 9.02.2024

Recenzja pracy doktorskiej
Mgr. inż. Marii Bzówka

Tytuł:
Analysis of molecular aspects of proteins regulation considering water molecules as a potential mediator in intermolecular interactions

Przedstawiona do recenzji praca stanowi przedstawienie i omówienie wyników badań prowadzonych przez mgr. inż. Marię Bzówkę na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej w Gliwicach. Promotorem pracy jest dr hab. Artur Góra, prof. PŚ. Praca jest przedstawiona w formie zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie dziewięciu opublikowanych w recenzowanych czasopismach artykułów naukowych i dodatkowo jednego preprintu. Jest to zgodne z ogólnymi wymogami art. 187 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 Prawo o Szkolnictwie wyższym i nauce z późniejszymi zmianami (Dz. U. 2023 poz. 742) odnośnie prac doktorskich. Zwyczajowo taki zbiór opublikowanych artykułów w pracy doktorskiej jest poprzedzony wprowadzeniem. W tym przypadku też takie wprowadzenie zostało przygotowane przez Doktorantkę. Obejmuje ono wstęp, cele pracy doktorskiej, rozdział omawiający wyniki badań i konkluzje oraz na końcu listę publikacji. Jest to obszerne opracowanie obejmujące w sumie 75 stron tekstu.

Omawiając tematykę pracy należy podkreślić, że jest ona ciekawa, i mimo, że wiele prowadzono badań odnośnie roli wody w układach biologicznych, to nadal wiedza ta nie jest pełna. W szczególności do tej pory dość mało poświęcono systematycznych badań na temat roli wody w tak zwanych „water tunnels" w białkach i ich funkcjonowaniu oraz roli wody w pośredniczeniu wiązania białko-ligand czy też białko-białko. Doktorantka prowadziła swoje badania na temat roli wody w trzech obszarach: projektowanie leków, regulacja białek i ich inżynieria oraz reakcje enzymatyczne. Przy czym używanie określenia „regulacja białek" jest nieprecyzyjne bo zawsze mówi się o regulacji jakiejś funkcji białka a nie samego białka jako takiego. Badania tych właściwości były prowadzone z wykorzystaniem rożnych metod modelowania molekularnego (głownie dynamiki molekularnej), w tym z wykorzystaniem oprogramowania AQUA-DUCT rozwijanego w zespole Promotora. Podejście metodyczne zastosowane w badaniach przedstawionych przez Doktorantkę i przedstawione w publikacjach jest dość nowatorskie. Otóż autorzy publikacji wykorzystują wyniki z symulacji dynamiką molekularną, które obejmują zachowanie się wody w otoczce solwatacyjnej, wewnątrz centrów aktywnych wiążących ligandy, we wlotach do tuneli wodnych i w samych tunelach. Dzięki zaawansowanej analizie zachowania się cząsteczek wody w tych obszarach układów

białkowych są w stanie określać w sposób bardziej precyzyjny właściwości poszczególnych elementów białek jak też i ich funkcji. We wszystkich pracach Doktorantka korzystała z modelu TIP3P wody. Dodatkowo jednak w swoich badaniach używała układy z ko-solwentem w celu próbkowania polarności niektórych obszarów białka. Było to szczególne przydatne przy badaniach związanych z projektowaniem nowych ligandów i roli wody w centrach aktywnych. Nowością naukową prowadzonych badań było, ogólnie mówiąc, ustalenie wielu nowych właściwości badanych układów (proteazy SARS-CoV-2 Mpro, rodziny hydrolaz epoksydowych, białka TLR8). O nowości naukowej świadczy też fakt opublikowania tych wszystkich badań w rozpoznawalnych międzynarodowych recenzowanych czasopismach. Warto podkreślić, iż liczba publikacji składających się na pracę doktorską jest znacząco wyższa niż w większość podobnych rozpraw. Pod tym względem bardzo wysoko oceniam pracę doktorską pani Bzówki.

Co do układu pracy to opracowanie wstępne jest bardzo dobrze przygotowane i wszystkie części są napisane bardzo poprawnym j. angielskim. Wstęp oprócz omówienia tematyki przedstawia również motywację do podjęcia badań, a nie tylko same cele pracy. Omówienie wyników jest dość obszerne, a ostatni rozdział przedstawia konkluzje, które rzeczywiści pokazują osiągnięcia. Doktorantka przedstawia też perspektywę dalszej pracy nad rolą wody i ko-solwentów m.in. w projektowaniu leków i badaniu odziaływań białko-białko.

Bardzo wysoko oceniam przedstawioną pracę doktorską i otrzymane wyniki, ale z obowiązku recenzenta muszę przedstawić pewne uwagi krytyczne czy też postawić pytania, na które nie znalazłem satysfakcjonującej odpowiedzi w publikacjach czy też tekście towarzyszącego opracowania.

Uwagi ogólne i szczegółowe:

1. Tak jak wcześniej wspomniałem używanie w tytule pracy jak i w opisie określenia „proteins regulation" bez odniesienia się o jaką regulację chodzi jest zbyt ogólne.
2. Na str. 26 Doktorantka pisze, że „Many disorders are caused by aberrant protein activity or disfunction". Jest to tylko część prawdy. Pozwolę sobie zadać pytanie, a jakiego typu „disorders" albo „diseases" są powodowane przez dobrze działające białka i jakie są to białka?
3. Wszystkie badania prowadzone dynamiką molekularną były z użyciem modelu wody TIP3P. Ze względu na to, że niektóre właściwości badanych układów mogą zależeć od stosowanego typu modelu wody dlaczego Doktorantka nie postarała się o jakieś badania porównawcze czy też nawet o zwykłe porównanie swoich wyników z innymi literaturowymi, w których być może stosowano inne modele wody?
4. Jednym z celów pracy prowadzonej przez Doktorantkę było opracowanie nowych inhibitorów proteazy SARS-CoV-2 Mpro. Był to cel molekularny szeroko eksplorowany przez różne grupy badawcze w okresie pandemii COVID-19. Chciałbym jednak dowiedzieć się czy Doktorantka wie jakie są słabe strony tego celu molekularnego i dlaczego on pod tym względem znacząco różni się od np. protezy HIV. W przypadku tej ostatniej opracowano bardzo dużo leków i wciąż opracowuje się nowe.
5. W badaniach wykorzystywano w symulacjach inne rozpuszczalniki (ko-solwents) niż wodę, zwłaszcza w odniesieniu do projektowania nowych inhibitorów i badania centrów aktywnych. Przy czym stosownie tych innych cząsteczek organicznych jest pewnym artefaktem, gdyż one nigdy w tych centrach nie znajdują się. Mają też inne geometrie. Chciałbym zatem dowiedzieć się jak w analizie wyników można ewentualnie zminimalizować ten problem „sztuczności".
6. Co rozumie Doktorantka przez określenie str. 42 „…some proteases had different electrostatic potentials of the binding cavities …"? Czy chodzi tu o rozkład molekularnego potencjału elektrostatycznego wewnątrz centrum aktywnego np. na powierzchni molekularnej?

7. Na stronie 47 Doktorantka wspomina o nowych miejscach tak zwanych „hot spots" P1-P3 dla hydrolazy hsEH, które potencjalnie mogą być użyte w projektowaniu leków. Czy już jakieś selektywne inhibitory zostały opracowane i czy badania eksperymentalne potwierdzają hipotezę o tych „hot spots"? W pracy jest informacja o tym, ale badania eksperymentalne przeprowadzono ze znalezionymi związkami na „cell lines" (str. 49). Dowód aktywności na komórkach nie jest jednak wprost i badane związki mogą mieć zupełnie inny mechanizm działania niż proponowany związany z konkretnym enzymem.
8. W badaniach nad rodziną hydrolaz epoksydowych Doktorantka pogrupowała badane białka i hydrolaza ludzka oraz grzybowa znalazły się w jednej grupie. Dla mnie nie jest to oczywiście przypadek i czy mogę oczekiwać od Kandydatki wytłumaczenia tej obserwacji, głębsze niż tylko analiza sekwencji?
9. W opisie udziałów współautorów załączonych publikacji wiele fraz jest podobnych w wielu oświadczeniach, ale jak rozumiem podział zadań dotyczył czy to systemów czy to obliczeń, a uproszczenie oświadczeń jest jedynie zabiegiem edytorskim.

Podsumowanie:
Pomimo moich pewnych uwag krytyczno-dyskusyjnych przedstawionych powyżej uważam, że tematyka pracy doktorskiej jest ciekawa i osiągnięcie Doktorantki jest bardzo znaczące. Jej wkład w poznawanie roli wody dla układów białkowych w różnych aspektach jest istotny, a opublikowane wyniki w aż 9 recenzowanych publikacjach są tego potwierdzeniem. Wnioskuję zatem do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Politechniki Śląskiej o dopuszczenie Pani **Mgr. inż. Marii Bzówka** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Podpisano odręcznie przez autora