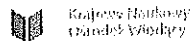




Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni
im. Jerzego Habera
Polskiej Akademii Nauk



Prof. dr hab. Ewa Broclawik

19 października 2020

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr DAWIDA DUŁAKA zatytułowanej
„MECHANIZM TRANSFORMACJI AMYLOIDOWEJ BAZUJĄCY NA ZMIANIE
ROZKŁADU HYDROFOBOWOŚCI”

Poniższa recenzja została przygotowana na prośbę Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Fizyczne Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego, po powołaniu mnie przez Radę Wydziału na recenzenta rozprawy doktorskiej mgr Dawida Dułaka.

Wstęp

Proces fałdowania białek jest niezmiernie istotnym elementem końcowego etapu kształtowania ich struktury a zatem ich właściwości i funkcji biologicznej. Pomimo tego, że proces ten jest niezmiernie ważny dla rozwoju wszelkich postaci życia, jego mechanizm jest wciąż nierozpoznany mimo ogromnych wysiłków czynionych zarówno w eksperymencie jak i poprzez symulacje komputerowe. Dla badacza-teoretyka chcącego zrozumieć szczegółowy mechanizm badanego zjawiska, fałdowanie białka leży poza granicami stosowalności dokładnych metod wywiedzionych z tzw. pierwszych zasad dla układów w skali molekularnej, takich jak fizyka czy chemia atomowa. Daleko zasięgowe zjawiska rządzone elektrostatyką wymykają się także szczegółowym analizom ze względu na wielość zmiennych elementarnych a także zupełnie nowe istotne zmienne, które ujawniają się dopiero w okolicach przejścia pomiędzy skalą mikro i makro.

Wymaga to innego paradygmatu opisu fałdowania białek, metodologii opartej na modelowaniu matematycznym dla niewielu efektywnych, trafnie wybranych zmiennych dla opisu czwartorzędowej struktury białka i dynamiki jej tworzenia. Taką metodą jest model Fuzzy Oil Drop (sformułowany operacyjnie w grupie, w której mgr Dułak wykonywał badania w ramach swojej pracy doktorskiej) i oparty na analizie rozkładu hydrofobowości w białku, rozumianej jako globalny parametr charakteryzujący jego oddziaływanie ze środowiskiem. Bardzo dobrze, że model ten znalazł zastosowanie w tematyce istotnej dla wszystkich – w badaniach nad mechanizmem chorób neurodegeneracyjnych.

Struktura rozprawy

Rozprawa doktorska mgr Dawida Dułaka złożona jest z pięciu publikacji, które ukazały się w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej oraz książkach, opatrzonych obszerną częścią opisową oraz 37 pozycjami bibliograficznymi. We wprowadzeniu autor przedstawia zarys tematyki i cel pracy, w kolejnych rozdziałach omawia materiały i metody, w tym opis używanej procedury i stojących za nią założeń wraz z przykładami. Szkoda, że w opisie modelu „Fuzzy oil drop” zabrakło spisu używanych symboli i ich znaczenia, znaleźć je można dopiero w pierwszym Załączniku (oryginalnej publikacji autora). Utrudnia to pierwsze czytanie i zrozumienie tekstu. Pewien niedosyt pozostawia także opis podstaw fizycznych używanych narzędzi obliczeniowych – niestety spotyka się tu sformułowanie nieprecyzyjne (trudno mi się na przykład zgodzić w pełni z definicją wiązań wodorowych).

Kolejne rozdziały to opis wyników czyli krótkie streszczenia załączonych publikacji, oraz dyskusja i wnioski. Mam tutaj zastrzeżenia do odnośników (rysunków i tabel) zamieszczonych w tekście a głównie do podpisów – część z tabel przedstawia analogiczne

właściwości dla różnych protein, opatrzona jest więc identycznym podpisem bez wyszczególnienia układu, którego tabela czy rysunek dotyczy (np. Rys.15, Tab. 2-6. Wszystkie te wątpliwości wyjaśnia oczywiście lektura prac oryginalnych ale nie ułatwia to studiowania części opisowej. Z drugiej strony, także w pracach oryginalnych znalazło się kilka literówek czy przeinaczeń, skoro jednak nie wypomnieli tego ich recenzenci nie będą ich tu omawiać.

Najważniejsze są jednak Wprowadzenie, Dyskusja i Wnioski, które merytorycznie rekompensują wszystkie braki w dopracowaniu tekstu jako mniej istotne wobec głównej wartości tej pracy.

Charakterystyka dorobku naukowego kandydata

Pan Dawid Dułak jest współautorem dziewięciu artykułów naukowych, w tym pięciu stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Wszystkie prace ukazały się w uznanych czasopismach lub książkach o zasięgu międzynarodowym, w sześciu z nich mgr Dułak jest pierwszym autorem. Prace te cytowane były dotąd 37 razy co świadczy o aktualności tematyki, którą się zajmują i ich dużej wartości. Dorobek ten jest znaczący jak na doktoranta, jest to niewątpliwie zasługa zespołu, w którym pracuje pan Dułak ale bez znaczącego wkładu własnego nie zostałby on współautorem wielu dobrych lub bardzo dobrych publikacji. W trzech z pięciu załączników do pracy doktorskiej zawarta jest opisowa ocena wkładu wszystkich autorów w publikację z której wynika, że pan Dułak wniósł główny wkład w metodologię, oprogramowanie i ich walidację.

Ocena rozprawy

Głównym osiągnięciem mgr. Dawida Dułaka, będącym podstawą rozprawy doktorskiej jest efektywna analiza struktury białek amyloidowych (białko Tau, trzy Amyloidy beta oraz alfa-Synukleina) oparta na założeniu modelu „Fuzzy Oil Drop”. Model FOD zakłada, że decydujący wpływ na proces fałdowania białek ma oddziaływanie ze środowiskiem wodnym, które powinno wymuszać finalną konformację zawierającą jądro hydrofobowe (grupujące elementy hydrofobowe) oraz ekspozycję grup hydrofilowych na powierzchni. Model ten okazał się efektywny we wspomaganie modelowania typowych białek globularnych i skutecznie konkuruje z profesjonalnym oprogramowaniem w wyznaczaniu struktury białka na podstawie jego sekwencji. Nie powinien on jednak być – i nie jest – skuteczny w reprodukcji struktur fibrylarnych, których podstawową własnością strukturalną jest brak

globularnej konformacji z jądrem hydrofobowym. Siła zastosowanego tu modelu leży w możliwości identyfikacji odstępstw rzeczywistej struktury od idealizowanego rozkładu hydrofobowości w łańcuchu analizowanego białka (który umożliwiłby fałdowanie zgodne z hydrofobowym jądrem i hydrofilową powierzchnią) i przypisaniu ich określonym sekwencjom aminokwasów.

Ponieważ na recenzowaną rozprawę składa się pięć oryginalnych wieloautorskich prac a uzupełniający opis zawiera tylko całościowe omówienie stosowanej metodologii, bez szczegółowego opisu wkładu własnego autora rozprawy, trudno wyrobić sobie precyzyjne zdanie. Spodziewam się, że partycypował on aktywnie w stworzeniu efektywnych wskaźników pozwalających na częściowo ilościowe oszacowanie różnic i podobieństw pomiędzy analizowaną strukturą doświadczalną oraz jej generowanym odpowiednikiem, np. idealizowaną strukturą z jądrem hydrofobowym (FOD) czy też hipotetycznym rozkładem hydrofobowości „selfish” czyli zgodnej z własną, natywną hydrofobowością residuów (dobrze zdefiniowane przypadki graniczne). Porównania takie prowadzone były dla całej struktury fibryla lub też wybranych fragmentów, traktowanych jako część fibryla bądź samoistny fragment.

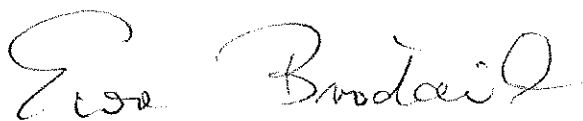
Niebanalne jest samo stworzenie protokołu obliczeń, składających się z określonej liczby symulacji za pomocą różnych narzędzi generowania struktury na podstawie sekwencji białka. Każde z narzędzi charakteryzuje się innymi preferencjami generowanych struktur i na tej podstawie wyłaniane mogą być wnioski dotyczące wpływu określonych czynników fizycznych czy chemicznych na fałdowanie badanego peptydu. Najważniejsze wydaje się jednak być przełożenie języka symulacji na język parametrów mających konotacje fizyczne a prowadzących do istotnych wniosków praktycznych, czyli krok poza numeryczne analizy parametrów. Na przykład:

- interpretacja ujemnych wartości określonych współczynników korelacji jako skłonności danego peptydu do fałdowania „wbrew” środowisku (niezgodnie z modelem FOD) a więc jego patogennej preferencji do polimeryzacji w agregaty fibrylowe
- podobieństwo rozkładu hydrofobowości w strukturze wynikającej z idealizowanego rozkładu hydrofobowości (zgodnego z FOD) do rozkładu hydrofobowości w strukturze rzeczywistej, która jest amyloidowa ale nie posiada jądra hydrofobowego może świadczyć o zaburzeniu środowiska wodnego w warunkach rzeczywistych
- przyjęty protokół obliczeniowy pozwala na wyodrębnienie tych fragmentów czy rezydów, które odpowiedzialne są za odstępstwa/zgodność badanych struktur z modelowymi i w domyśle może doprowadzić do eliminacji/neutralizacji szkodliwych czynników.

Wydaje mi się, że odpowiedź na postawione przez autora we wstępie pytanie o identyfikację przyczyn, dla których dany łańcuch nie generuje struktury globularnej gwarantującej postać rozpuszczalną została w tej rozprawie w znacznym stopniu udzielona.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Uważam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Dawida Dułaka w pełni spełnia wymogi określone w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z 14 marca 2003 (Dz. U. R.P. nr.65/03, poz. 595 ze zm.w Dz. U. R.P. z 2005 r., nr 164, poz. 1365) i Rozporządzenia Ministra Edukacji Narodowej i Sportu z 15 stycznia 2004 w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym (Dz. U. R.P. nr 15/04, poz. 128 ze zm. W Dz. U. R.P. z 2005 roku nr 252, poz. 2125) z późniejszymi uzupełnieniami, mgr Dawid Dułak w pełni zasługuje na nadanie mu stopnia doktora i wnoszę o dopuszczenie go do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.*



/Ewa Broclawik/