

Polski odpowiednik angielskiej wersji recenzji rozprawy doktorskiej Ewy Ireny Gołaś zatytułowanej “Molecular dynamics investigation of the structure-function relationships in proteins with examples from Hsp70 molecular chaperones, α A-crystallin, and sericin” z dnia 13.07.2014.

Promotorem przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej jest Profesor Józef Adam Liwo. Została ona wykonana w Pracowni Modelowania Molekularnego Wydziału Chemii UG. Zależności pomiędzy strukturą a właściwościami odgrywają główną rolę w chemii oraz biochemii białek. Już pobieżne spojrzenie w listę literatury cytowanej w pracy pokazuje, że wspomniane wyżej zależności rozciągają się bardzo szeroko, począwszy od problemów czysto strukturalnych aż po funkcje protein wynikające z ich budowy. Rozwiązywanie tajemnic zależności pomiędzy strukturą i funkcją pociąga-zatem za sobą badania nad wpływem zmian w strukturze na zmiany właściwości. Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska dostarcza nam wgląd w istotę zależności pomiędzy strukturą a funkcją dla trzech reprezentacyjnych białek: Hsp70 (Heat shock protein 70kDa) białko opiekuńcze, którego funkcją jest ułatwianie właściwego zwijania się białek podopiecznych; α A-crystallina, która znajduje się mniej więcej po środku w szeregu pomiędzy białkami opiekuńczymi a strukturalnymi, wykazując jednocześnie funkcje białka opiekuńczego oraz strukturalnego; oraz jako ostatni przykład zastosowanie zależności struktura właściwości w celu optymalizacji biopolimeru bazowanego na serycynie jako nowego biomateriału. Zatem należy stwierdzić, że tematyka badawcza Ewy Ireny Gołaś jest niewątpliwie aktualna i nowoczesna a jej rezultaty mogą mieć szerokie zastosowania.

Ogólnym celem prezentowanej rozprawy było jednak przede-wszystkim wniesienie wkładu w rozwój jakościowej teorii termodynamiki statystycznej oddziaływań pomiędzy białkami a ich otoczeniem.

W celu wyjaśnienia funkcji białka Hsp70 jako ATP-azy doktorantka postanowiła zbadać jego domenę wiążącą substrat (SBD) w rozdzielczości atomowej za pomocą dynamiki molekularnej w polu siłowym AMBER. Następnie za pomocą analizy głównych składowych ruchu (PCM) Ewa Gołaś dokonała rozkładu dynamiki domeny SBD na dwa zbiory opisujące istotne trendy drgań w stanach wiążących i nie-związanych z substratem oraz porównała swoje wyniki z obserwacjami doświadczalnymi. Ponadto wykazała ona, że dynamika badanego białka jest zależna od obecności nukleotydu w miejscu wiążącym a zależność funkcji od struktury polega na względnej rotacji domen tworzących wewnętrzną sieć oddziaływań allo-sterycznych.

W trakcie kilku ostatnich dziesięcioleci byliśmy świadkami narodzin nowego podejścia do badań naukowych, bazującego na wykorzystaniu coraz szybszych elektronicznych maszyn liczących. Obliczenia stały się metodą badawczą, która stopniowo zaciera tradycyjny podział

metodyczny na teorię i eksperyment. Symulacja i projektowanie wspomagane komputerowo oferuje pół-ilościowe metody rozwiązywania skomplikowanych problemów, które są zbyt złożone, aby rozwiązywać je klasycznymi metodami teoretycznymi. Jednocześnie metody te zaczynają być wiarygodną alternatywą dla trudnych doświadczalnie bądź kosztownych eksperymentów laboratoryjnych. W celu zbadania niskoczęstotliwościowej dynamiki całego białka opiekuńczego z *E. coli*, (pdb 2KHO) Ewa Gołaś zastosowała model i pole siłowe UNRES które pomija typowo wykorzystywaną w tej dziedzinie badań rozdzielczość atomową. Przeprowadzone symulacje metodą dynamiki molekularnej Langevina pozwoliły jej zaobserwować i scharakteryzować trzy typy oddziaływań wiążących pomiędzy domenami białka opiekuńczego SBD i NBD. Ta część pracy pozwoliła doktorantce sformułować szczegółowy opis mechanizmu transferu informacji pomiędzy domenami jako funkcję stanu ATP-azy w sensie obecności lub nie-obecności substratu w centrum wiążącym.

W części trzeciej swojej rozprawy, Ewa Gołaś zbadła w rozdzielczości atomowej, za pomocą modelu i pola siłowego AMBER białko α A-crystalinę z *B. Taurus* (pdb 3L1E) jako związek modelowy. W tym przypadku, interesował ją wpływ racemizacji aminokwasów na właściwości białka, badała-zatem, efekt zamiany L-amino kwasu na jego D-analog uwzględniając zmianę struktury oraz właściwości mechanicznych białka względem formy natywnej. Precyzyjne wyznaczanie właściwości mechanicznych materiałów z symulacji dynamiki molekularnej nie jest jeszcze działaniem rutynowym. W ostatnich latach zaproponowano wprawdzie kilka nowoczesnych podejść w celu rozwiązania tego problemu ale wyniki często odbiegają od wartości doświadczalnych nawet o rząd wielkości. Ewa Gołaś zastosowała metodę SMD (Steered Molecular Dynamics) czyli dynamikę nierównowagową z użyciem kontrolowanej siły zewnętrznej, jako podstawowe narzędzie. W tym przypadku, białko sHsp (small heat-shock protein) było poddawane wydłużeniu wzdłuż jego głównej osi. Jako metodę analizy doktorantka wybrała trafnie metodę Essential Dynamics. Dominującym wnioskiem wynikającym z tych badań jest stwierdzenie, że stabilność białka zależy od obecności charakterystycznych mostkujących elementów strukturalnych. Wzrost sztywności względem natywnej formy białka jest związany z reorganizacją tych elementów strukturalnych pod wpływem przyłożonego naprężenia. Spadek sztywności jest skorelowany ze zmniejszeniem się ilości typowych mostkujących elementów strukturalnych w porównaniu do naturalnej struktury białka α A-crystalin. Okazuje się, że w przypadku badanego białka zależność pomiędzy jego strukturą a funkcją jest silnie zależna od chiralności aminokwasów oraz w mniejszym stopniu od rodzaju aminokwasu. Ponadto Ewa Gołaś zaprojektowała i przetestowała właściwości mechaniczne nowego biopolimeru opartego o serycynę za pomocą symulacji SMD z użyciem modelu i pola siłowego AMBER w rozdzielczości atomowej. Ta część badań nie była sugerowana przez promotora i powstała z własnej inicjatywy doktorantki. Ponieważ serycyna jest produktem ubocznym powstającym w znacznych ilościach podczas otrzymywania jedwabiu naturalnego, ta część pracy może okazać się ważna dla przemysłu jedwabniczego.

Podsumowując stwierdzam, że wszystkie cele, które postawiła sobie doktorantka zostały osiągnięte a pojawiające się po drodze do celu problemy rozwiązane. Rozprawa doktorska została napisana w języku angielskim z należytą uwagą i troską. Przeprowadzone wywody są jasne i w pełni zrozumiałe dla czytającego. Jako recenzent nie znajduje w niej żadnych błędów logicznych lub formalnych (typograficznych bądź językowych). Rozprawa jest dla mnie dowodem, że Pani Ewa Irena Gołaś jest należycie przygotowana do samodzielnego prowadzenia wymagających wysokich kwalifikacji badań naukowych oraz do prezentacji swoich wyników w elegancki sposób.

Wnioski:

W mojej opinii wyniki przedstawione w pracy są prawidłowe, nowe i interesujące. Rozprawa jest napisana w sposób jasny i bez-błędny. Ponadto sądzę, że wyniki wzbudzą należyte zainteresowanie wśród specjalistów pracujących w dziedzinie dynamiki procesów chemicznych z uwzględnieniem różnych skali czasu.

Podsumowując powyższe fakty stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania i rekomenduję nadanie stopnia doktora Pani Ewie Irene Gołaś.

Aleksander Herman

**Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pani Ewy Ireney Gołaś.**

Zapytując mnie o ewentualne podjęcie się recenzji rozprawy doktorskiej Pani Ewy Ireney Gołaś jej promotor gorąco zarekomendował mi osobę doktorantki jako, bardzo dobrze wyedukowaną, pracowitą i zdolną. Ponadto przedstawił ją jako młodego i pełnego entuzjazmu naukowca wyróżniającego się pozytywnie z grona pozostałych doktorantów Pracowni Modelowania Molekularnego, Wydziału Chemii UG, poprzez udział w przełomowych osiągnięciach naukowych publikowanych wspólnie z tak znanymi uczonymi jak Harold A. Scheraga, Adam Liwo czy Cezary Czaplewski, żeby wspomnieć tylko trzech współautorów.

Biorąc pod uwagę jakość rozprawy oraz towarzyszących jej publikacji, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Aleksander Herman

