

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Pawła Krupy zatytułowanej:  
“Rozszerzenie pola siłowego UNRES o potencjały lokalne i dane z metod  
porównawczych w celu lepszego przewidywania struktur białek”.**

Promotorem przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej jest profesor UG Dr hab. Cezary Czaplewski a promotorem pomocniczym Dr Adam K. Sieradzan. Została ona wykonana w Pracowni Symulacji Polimerów Katedry Chemii Teoretycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego w ramach projektu International PhD. Praca mgr Pawła Krupy liczy 108 stron i oparta jest na czterech artykułach dołączonych do pracy w postaci załączników opublikowanych w *Proteins* (jedna praca, w której Paweł Krupa jest jednym z trzydziestu współautorów) i *JCTC* (dwie prace, w których w jednej jest pierwszym z ośmiu autorów a w drugiej autorem korespondencyjnym w imieniu czterech pozostałych współautorów). W manuskrypcie czwartego artykułu jest on pierwszym z sześciu współautorów.

Pomimo wspomnianych załączników przedstawiona do recenzji praca jest klasyczną rozprawą doktorską podzieloną na dziesięć ponumerowanych części. Te części to:

1. Podziękowania
2. Wykaz skrótów
3. Wykaz użytego oprogramowania i serwerów obliczeniowych
4. Cel pracy
5. Część teoretyczna
6. Wyniki
7. Podsumowanie i wnioski
8. Lista pozostałych publikacji
9. Wykaz rysunków
10. Bibliografia

Lektura podziękowań pozwala czytelnikowi zorientować się jak bardzo uzależniony od pomocy innych ludzi jest dzisiejszy młody naukowiec. Wśród osób wymienionych z nazwiska można tu znaleźć promotora i współ promotora, profesora Adama Liwo oraz żonę doktoranta, której dziękuje on za wsparcie i wiarę w sens tego, na co poświęca najlepsze lata swojego i jej życia. Doktorant dziękuje również Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, funduszom rozwoju regionalnego EU oraz Ministerstwu Nauki i Szkolnictwa Wyższego za finansowane granty i stypendia. Na koniec znajdujemy w tej części podziękowania za udostępnienie czasu procesorów w centrach komputerowych TASK i NERSC.

Zamieszczony w części drugiej pracy dwustronicowy wykaz skrótów jest dobrze wyważony i znakomicie ułatwia czytanie pracy.

Podobnie oceniam użyteczność wykazu użytego oprogramowania i serwerów obliczeniowych zamieszczony w części trzeciej rozprawy.

W części czwartej rozprawy doktorant na dwu stronach formułuję cel swojej pracy. Ogólnie rzecz ujmując celem rozprawy doktorskiej było kolejne udoskonalenie rozwijanego w UG pola siłowego UNRES pod względem poprawy jego zdolności predykcyjnych tak, aby przeprowadzane symulacje dynamiki molekularnej tzw. „zwijania” białek umożliwiały otrzymanie struktur o większym podobieństwie do struktur eksperymentalnych.

Aby rozeznąć się w możliwościach predykcyjnych modelu UNRES w warunkach porównywalnych z innymi metodami mgr Krupa postanawia uczestniczyć w 10-iej edycji eksperymentu CASP10 oraz w projekcie WeFold debiutującym podczas tego eksperymentu.

Doktorant wraz ze współpracownikami wybiera dwa potencjalnie efektywne sposoby poprawy wyników pola siłowego UNRES i postanawia pracować nad:

1. wprowadzeniem nowych potencjałów sprzęgających lokalne stany rotameryczne łańcuchów bocznych oraz korelujące położenie łańcucha bocznego z łańcuchem głównym
2. użyciem metod modelowania homologicznego jako źródła ewentualnych dodatkowych więzów na wybrane odległości i kąty torsyjne w celu lokalnego ograniczenia dostępnych obszarów hiper-powierzchni energii potencjalnej badanej struktury.

Nie mam żadnych zasadniczych zastrzeżeń do tak postawionego celu badań biorąc pod uwagę ograniczony horyzont czasowy przeznaczony na wykonanie doktoratu zwykle jak wszyscy wiemy wynoszący około trzy lub cztery lata.

W części piątej swojej rozprawy mgr Krupa postanawia przybliżyć czytelnikowi stosowane przez niego metody teoretyczne na tle szerszego spektrum dostępnych metod. Ta część rozprawy liczy 45 stron i porusza następujące zagadnienia:

1. Metody obliczeniowe
2. Mechanika molekularna
3. Dynamika molekularna
4. Teoretyczne metody przewidywania struktur białek

Ta część rozprawy budzi nieco mieszane uczucia u recenzenta. Z jednej strony wybór tematów jest niewątpliwie właściwy i dobrze przemyślany a cytowania odnośników literaturowych bardzo trafnie dobrane, co znalazło uznanie w oczach pani Profesor Anny Dołęgi, która oceniła pozytywnie ten fragment pracy pod względem merytorycznym. Ale z drugiej strony język stosowany przez autora nie jest moim zdaniem niestety w pełni profesjonalny. Dam w tym miejscu kilka przykładów nie dla tego, aby się nad doktorantem zniecać, ale po to by nie być gołosłownym. Na stronie 12-iej w podrozdziale 5.1.1 poświęconym metodom *ab initio* czytamy, cytuję „Metody *ab initio*, określane także metodami chemii (fizyki) kwantowej bazują na podstawowych prawach fizyki, nie wykorzystując jakichkolwiek innych danych eksperymentalnych niż uniwersalne stałe **chemiczne**.”, koniec cytatu. Jest to zdanie zrozumiałe, ale czy precyzyjne? Dla mnie stała Plancka jest raczej stałą fizyczną niż chemiczną podobnie jak pozostałe wielkości fizyczne stosowane w układzie jednostek atomowych. Kolejny z wielu przykładów to zdanie ze strony 14-iej tego samego podrozdziału, cytuję „Metody *ab initio* pozwalają na osiągnięcie najlepszej możliwej **precyzji obliczeń** ze wszystkich istniejących metod teoretycznych, szczególnie w

przypadku małych układów nie zawierających bardzo ciężkich atomów.”, koniec cytatu. Mam nadzieję, że doktorant w trakcie obrony wyjaśni bardziej szczegółowo, co konkretnie miał na myśli pisząc to zdanie? Mógłbym jeszcze długo wyliczać podobne jak wyżej nieścisłości, ale nie widzę w tym większego sensu. Chciałbym jedynie podkreślić, że nie mam najmniejszej wątpliwości, co do znajomości narzędzi teoretycznych przez doktoranta a jedynie nie podoba mi się styl, jakim je opisuje.

Rozdział szósty pracy opisuje wyniki uzyskane przez doktoranta i jest podzielony na następujące cztery części:

1. Testy wydajności gruboziarnistego pola siłowego UNRES w 10 edycji eksperymentu CASP z wykorzystaniem więzów w oparciu o przewidywania kontaktów między resztami aminokwasowymi
2. Wprowadzenie statystycznych potencjałów korelujących położenie zjednoczonych łańcuchów bocznych i łańcucha głównego do pola siłowego UNRES sparametryzowanego na białku 1GAB
3. Wprowadzenie fizykochemicznych potencjałów korelujących położenie zjednoczonych łańcuchów bocznych i łańcucha głównego do pola siłowego UNRES sparametryzowanego na białkach 1LE1 i 1L2Y
4. Rozszerzenie pola siłowego UNRES o możliwość uwzględniania informacji o strukturze modeli utworzonych przy pomocy metod modelowania homologicznego

Uczestniczenie przez doktoranta w eksperymencie CASP w ramach grup Cornell-Gdańsk i wfCPUNK pozwoliło mu rzetelnie ocenić potencjał drzemający w polu siłowym UNRES. Jego udział w testowaniu kodu programu UNRES oraz podprogramów WHAM i cluster z zaimplementowanymi potencjałami statystycznymi został doceniony przez pozostałych współautorów w postaci uhonorowania go pozycją pierwszego autora w powstałej później publikacji. Zaś jego praca nad opartymi na metodzie AM1 potencjałami korelującymi położenie zjednoczonych łańcuchów bocznych i łańcucha głównego doprowadziła do awansu na funkcję autora korespondencyjnego powstałej później publikacji. Zważywszy zaś, jakiej klasy uczeni są współautorami w tych publikacjach trzeba uznać powyższe rezultaty za wielki sukces doktoranta.

W części siódmej swej pracy doktorskiej autor umieścił podsumowanie i wnioski końcowe wynikające z badań, w których uczestniczył. Osiągnięty postęp jest skromny, ale jednoznacznie pozytywny. Pole siłowe UNRES wykazuje zdolność do poprawnego przewidywania upakowania struktury drugo- i trzeciorzędowej, szczególnie przydatną, gdy metody oparte o modelowanie homologiczne nie mogą być wsparte danymi strukturalnymi odpowiednich białek wzorcowych. Słabością tego pola jest jednak dość przeciętna rozdzielczość uzyskiwanych struktur. Przeprowadzona przez doktoranta optymalizacja potencjałów statystycznych oddziaływania łańcucha głównego z grupami bocznymi wykazała w testach przeprowadzonych na białkach treningowych zauważalną poprawę rozdzielczości o około 0.5 Å. Ponadto, wykonane przez autora testy na 22 białkach nieuwzględnianych podczas optymalizacji nowowprowadzonych potencjałów opartych na modelu AM1, wykazały znaczną poprawę wartości RMSD o około 0.3 Å. Zatem praca wykonana przez mgr Pawła Krupę przyczyniła się znacznie do polepszenia zdolności predykcyjnych pola siłowego UNRES.

Część ósma pracy doktorskiej zawiera listę publikacji doktoranta niezwiązanych bezpośrednio z tematem rozprawy. Jest ona imponująca i zawiera trzy publikacje z tzw. listy filadelfijskiej (sumaryczny IF=13.471), rozdział w książce „Coarse-Grained Modelling of Biomolecules”, dwie publikacje w *TASK Quarterly* oraz pięć publikacji o zasięgu krajowym.

W części dziewiątej rozprawy znajduje się wykaz rysunków wraz z podpisami (18) a w dziesiątej obszerna bibliografia obejmująca imponującą ilość dobrze dobranych pozycji literaturowych (276).

#### **Podsumowanie:**

W mojej opinii wyniki przedstawione w pracy są prawidłowe, nowe i interesujące a rozprawa jest napisana w sposób jasny i bardzo dobrze udokumentowana. Doktorant osiągnął postawione przed nim cele i zyskał pełne zaufanie wśród liczego grona międzynarodowych badaczy o tak uznanej renomie jak Profesor Harold A. Scheraga. Mgr Paweł Krupa udowodnił tym samym, że posiada trzy podstawowe cechy wymagane od współczesnego naukowca. Tymi cechami są: perfekcyjna znajomość warsztatu naukowego i problematyki uprawianej dziedziny, pracowitość oraz zdolność do współpracy w grupie.

Podsumowując powyższe fakty, stwierdzam, że przedłożona do oceny rozprawa doktorska, chociaż trochę nietypowa, bo opisująca badania wykonane w ramach zaawansowanej międzynarodowej współpracy, spełnia wszystkie wymagania formalne i zwyczajowe stawiane tego typu pracom. Rekomenduję, zatem dopuszczenie pana mgr Pawła Krupy do dalszych etapów procedury prowadzącej do nadania mu stopnia doktora.

Aleksander Herman



## Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Pawła Krupy.

Nie ukrywam, że napisawszy recenzję rozprawy doktorskiej mgr Pawła Krupy miałem chwilę wahania dotyczącego decyzji czy napisana przez niego rozprawa zasługuje na wyróżnienie? Sprawa decyzji o wyróżnieniu pracy jest prosta w przypadku, gdy jej przedmiotem jest mniej lub bardziej przełomowe odkrycie naukowe dokonane przez doktoranta, a pewien udział w tym odkryciu ma jedynie jego promotor. Wychodząc z takiego punktu widzenia krzywdzi się jednak młodych badaczy, którzy ofiarnie i z zapałem włączają się w wielkie wieloletnie projekty, których celem jest rozwiązanie przełomowych problemów w nauce lub technice. Z natury rzeczy praca w takich projektach jest często bardzo niewdzięczna gdyż udział młodego naukowca ginie w gąszczu nazwisk pozostałych często bardzo znanych współpracowników. Ponadto postęp w takich projektach bywa bardzo powolny a widoczny przełom następuje dopiero po latach badań i zmian w mentalności naukowej badaczy. Powstaje, zatem pytanie czy badania, w których uczestniczył doktorant spełniają powyższe kryteria?

Problematyka dotycząca równowag „klębek – nitka” w zastosowaniu do białek została zainicjowana w latach trzydziestych ubiegłego wieku przez profesora Ernesta Aleksandra Syma. Badał on reakcje enzymatyczne esterazy, ligazy oraz innych hydrolaz i stwierdził eksperymentalnie, że enzymy te działają nawet w temperaturze  $-30^{\circ}\text{C}$  czyli w warunkach w których woda jako rozpuszczalnik występuje normalnie w fazie stałej. Stwierdził ponadto, że wyżej wymienione enzymy są aktywne katalitycznie w rozpuszczalnikach organicznych takich jak aceton, butanol i wiele innych. Pomimo publikacji swoich prac w bardzo dobrych międzynarodowych czasopismach przeszły one bez echa, bo wszyscy ówcześni uczeni uznawali za rzecz oczywistą, że enzymy działają tylko w roztworach wodnych. Profesor Sym zginął śmiercią tragiczną w 1950 roku i niestety nie zdążył zmienić stanu świadomości środowiska naukowego w świecie. Trzeba było czekać kolejnych dwanaście lat zanim pojawiły się przełomowe prace Nemethy i Scheragi poświęcone oddziaływaniom hydrofobowym pomiędzy białkami i wodą a produkcja czystych enancjomerów i określonych form chiralnych związków organicznych została oparta na odkryciach profesora Syma. Aktywność naukowa profesora Scheragi oraz jego współpracowników i konkurentów na całym świecie, z których wielu wywodzi się z Wydziału Chemii UG doprowadziła do szerokiego wykorzystania osiągnięć chemii teoretycznej i technologii komputerowej do modelowania równowag „klębek – nitka” w zastosowaniu do białek. Mentalność naukowa tego nowego środowiska uczonych jest już zupełnie inna niż za czasów profesora Syma. Jednak wyniki kolejnych eksperymentów CASP pokazują, że pomimo upływu ponad pięćdziesięciu lat postęp jest powolny a istniejące metody rozwiązywania problemu dalekie od ideału ze względu na ogromną ilość stopni swobody badanych układów i różnorodność oddziaływań pomiędzy białkiem a jego solwatacyjnym otoczeniem.

Zatem biorąc pod uwagę złożoność problematyki, jakość rozprawy oraz towarzyszących jej publikacji oraz sumaryczny dorobek doktoranta wnioskuję o jego wyróżnienie.

Aleksander Herman

