

Data: Toruń, 22 grudnia, 2015

L. Dz.

Prof. zw. dr hab. Wiesław Nowak
Zespół Teoretycznej Biofizyki Molekularnej
Instytut Fizyki
Uniwersytet M. Kopernika w Toruniu
87-100 Toruń, ul. Grudziądzka 5

**RECENZJA rozprawy doktorskiej
mgr Macieja Błaszczyka
pt.**

“Metody teoretyczne przewidywania struktury białek oraz ich kompleksów z peptydami”

Niewiele jest grup związków chemicznych o tak fundamentalnym znaczeniu dla procesów życiowych jak białka. Występują one we wszystkich żywych organizmach i mimo wielu lat badań nad chemią i fizyką białek wiele ich właściwości nie jest poznanych. W szczególności uwagę wielu grup badawczych zajmuje badanie związku pomiędzy strukturą a funkcją białek. Biopolimery te mają często ustaloną strukturę 3D warunkującą poprawną realizację funkcji biologicznych, niestety, z niewielkimi wyjątkami (ok. 100 000 wyjątków), nie jest ona jeszcze poznana. Piszę, że 100 000 struktur zdeponowanych w bazie internetowej PDB jest to niewiele, ponieważ znanych biologicznych sekwencji białkowych są miliony. Sekwencjonowanie jest obecnie tanie i szybkie, więc dysproporcja pomiędzy informacją 1D a 3D się powiększa. Eksperymentalny proces określania struktury 3D białka czy to metodami dyfrakcji promieni X czy NMR czy też SAXS bądź TEM jest czasochłonny i kosztowny. Nadzieje na przełom w tej dziedzinie są obecnie dość nikłe, nie można, np., liczyć na wykorzystanie laserów FEL ze względu na ich koszt i niedostępność. Jedyna szansa na znaczące rozszerzenie naszej wiedzy o strukturach białek leży więc w metodach komputerowych. Modelowanie molekularne białek ma długą tradycję. Rozwój metod został nawet uhonorowany niedawną (2013) Nagrodą Nobla z chemii. Rozsądne zaplanowanie modelu białka i rozwiązanie odpowiednich klasycznych równań ruchu daje nowe informacje trudne do zdobycia innymi metodami. Wyniki modelowania są nieustannie konfrontowane z danymi eksperymentalnymi i w wielu przypadkach modele teoretyczne białek uzyskują silne wsparcie w takich danych. Efektywne badania teoretyczne wymagają jednak doskonalenia metod, m.in. poszukiwane są uproszczone, ale możliwe realistyczne sposoby opisu struktury białek. Laboratorium prof. Andrzeja Kolińskiego ma osiągnięcia w tej dziedzinie znane na całym świecie. Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska Mgr Macieja Błaszczyka („Metody teoretyczne przewidywania struktury białek oraz

ich kompleksów z peptydami”) lokuje się zatem w niezwykle aktualnym i ważnym nurcie badań nad teoretycznym opisem struktury i dynamiki białek.

Celem rozprawy doktorskiej mgr. Macieja Błaszczyka było opracowanie nowych narzędzi przewidywania struktury białek oraz kompleksów białek z peptydami. Przewidywania oparte są na sekwencji zadanego układu oraz informacjach o strukturach homologicznych lub fragmentarycznych danych doświadczalnych. Narzędzia te to przemyślane metody modelowania molekularnego zaimplementowane w postaci ogólnodostępnych serwisów internetowych. W moim przekonaniu cel rozprawy został w pełni osiągnięty.

Praca doktorska, napisana w Pracowni Teorii Biopolimerów Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Kolińskiego ma tzw. nową formę: jest to zbiór 11 publikacji (P1-P11) wieloautorskich (w jęz. ang.) stanowiących podstawę rozprawy oraz ok. 80-cio stronicowe „Wprowadzenie” (mój tytuł), opatrzone Wstępem i podzielone na dwie główne części – teoretyczną i zawierającą omówienie wyników wykonanych prac. Bibliografia związana z Wprowadzeniem liczy ok. 120 pozycji. Podział treści prezentowanych w rozprawie jest logiczny. Każda publikacja P1-P11 poprzedzona jest informacją o zakresie udziału doktoranta w jej tworzeniu (str. 83-86). Informacja ta nie budzi wątpliwości i pozwala recenzentowi uznać, iż rola doktoranta w niektórych publikacjach była dominująca (pierwszy lub drugi autor) w innych zaś ważna, ale nie kluczowa. Wprowadzenie do cyklu prac kończy się krótkim podsumowaniem (str. 71-73) zawierającym wnioski z prowadzonych badań.

Przedstawię kolejno omówienie i ocenę „Wprowadzenia” oraz istotniejszych publikacji doktoranta składających się na rozprawę.

Analiza „Wprowadzenia”, tekstu napisanego samodzielnie, pozwala sformułować opinię, iż mgr Maciej Błaszczyk potrafi jasno i syntetycznie prezentować złożone i trudne zagadnienia naukowe. Opis metod doświadczalnych stosowanych do określania struktury przestrzennej białek jest b. zwięzły, ale poprawny. Główna metoda reprezentacji gruboziarnistej struktury białka rozwijana w macierzystym laboratorium (CABS) jest podana bardzo klarownie, chociaż moim zdaniem opis głównych „komponentów” (? pol: składników?) pola siłowego CABS mógłby być jednak bardziej szczegółowy (str.30). W literaturze polskiej, o ile wiem, nie ma w zasadzie nigdzie technicznego opisu sposobu tworzenia potencjałów statystycznych, kluczowych dla sukcesu opisywanych metod. Tutaj była okazja podania takiego opisu, niestety tego elementu mi zabrakło. Na stronie 32 znajdujemy stwierdzenie „... *ich długie serie pozwalają na*

realistyczne odtworzenie dynamiki procesów w dużej skali czasowej, np. mechanizmu zwijania białek”. Byłbym ciekaw komentarza doktoranta (w czasie obrony) co rozumie w tym zdaniu pod terminem „dynamika procesu” skoro do symulacji stosowane jest, jak pisze wcześniej Autor podejście Monte Carlo. Sądzę, że termin „trajektoria”, użyty nieco dalej w podsekcji 2.2.3 jest nieco na wyrost (?żargonowo), później doktorant stosuje już bardziej ściśle określenie „pseudotrajektoria”. Opis analizy wyników symulacji otrzymanych metodami gruboziarnistymi jest też zwięzły, ale ważny i informatywny. Doktorant poświęcił wiele uwagi zagadnieniu optymalizacji uzyskanych modeli w osobnej publikacji P5, ma to duży związek z udziałem w słynnym międzynarodowym eksperymencie (czy jak niektórzy mówią konkursie) CASP (*Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Predictions*). Grupa LTB, której członkiem był pan mgr M. Błaszczak odniosła spore sukcesy w edycji CASP9 (rok 2010) tego międzynarodowego wyzwania.

Część druga wprowadzenia to omówienie głównych wyników prac realizowanych w rozprawie. Grupują się one wokół czterech zagadnień:

1. Stworzenie serwera *BioShell Threader* do identyfikacji szablonu i przyrównywania sekwencji metoda przewlekania (praca P2, 2012, NAR, drugi autor)
2. Udział w tworzeniu serwera *CABS-fold* do próbkowania przestrzeni konformacyjnych białek (praca P4 NAR 2013 - pierwszy autor, P3 CBSB11 – pierwszy autor)
3. Tworzenie metod i oprogramowania do wyboru, odbudowy i optymalizacji modeli zaimplementowanych w serwerze *CABS-fold* (praca P4 NAR 2013, pierwszy autor, praca P5 – trzeci autor, *Comp. Mol. Sci.* 2012)
4. Opracowanie metody giętkiego (*flexible*) dokowania ligandów peptydowych do białek (bez uprzedniej znajomości miejsca dokowania) – serwer *CABS-dock*, (praca P6, NAR 2016, trzeci autor, praca P7 2016, *Methods*, pierwszy autor).

Opis ten imponuje różnorodnością podejmowanych wątków badawczych, jest dobrze osadzony w literaturze, ilustrowany jest ciekawymi przykładami zastosowań serwerów CABS i rozwijanych metod. Przykłady są dobrane starannie i może nieco „propagandowo”, ale bez wysokiej jakości metody teoretycznej nie byłoby możliwe uzyskanie tak spektakularnego wyniku jak model celu T0594 pokazany na Rys. 18. (bardzo podobny do struktury doświadczalnej). Również modelowanie nieznanych fragmentów białek udaje się dobrze przy pomocy opracowanego schematu, np. korelacja fluktuacji obliczonych z modelu *CABS-fold* z fluktuacjami NMR jest moim zdaniem b. dobra. (Rys. 22). Szkoda tylko, że Autor nie zaznaczył na tym Rys. 22 obszaru dobudowanego fragmentu białka yqgF z pałeczki okrężnicy (19 AA). Przykład wskazujący na zalety modelowania kompleksów serwerem *CABS-dock* (Rys. 26) jest też doskonały: Obliczenia doktoranta i zespołu pokazały, że dopiero umożliwienie dokowania z

pełną elastycznością peptydu i receptora (tutaj 2RTM) daje właściwy model kompleksu. Takie dokowanie rzadko jest możliwe w ramach standardowych serwerów czy programów dokujących, zatem praca ta (P7) wyraźnie poszerza arsenał metod teoretycznych dostępnych chemikom, biofizykom czy bioinformatykom.

Z dużą uwagą i sporą przyjemnością zapoznałem się z publikacjami P1-P11 składającymi się na rdzeń rozprawy. Prace te są napisane ścisłym, jasnym językiem, z dużą troską o dokładne przedstawienie metod czy problemów. Trzy publikacje stanowią opis ważnych narzędzi – serwerów służących do modelowania białek. P2, P4 i P6 i ukazały się w b. wysoko notowanym czasopiśmie *Nucleic Acids Research* (NAR IF~8-9). Prace P1 i P5 są to dość obszerne prace przeglądowe poświęcone metodom gruboziarnistym (P1) lub metodom optymalizacji białek (P5, IF ~5). Pozostałe publikacje (6) są to opublikowane krótkie doniesienia konferencyjne, poświęcone pewnym szczegółowym problemom (np. P11) lub sygnalizujące nowe możliwości modelowania polem CABS (P10 – rozplatanie mechaniczne i symulacje eksperymentów SMFS AFM). Prace te w większości przeszły przez sito dość surowych recenzji.

Warte podkreślenia jest to, że pan mgr M. Błaszczuk jest pierwszym autorem obszernej (28 stron) pracy przeglądowej (P1, 2014, rozdział w książce wydanej przez wyd. Springer). Praca jest bardzo solidna, starannie omawia całą gamę metod gruboziarnistych, świadczy o doskonałej orientacji w dziedzinie i erudycji autorów. Doktorant napisał w tym artykule część dotyczącą analizy dokładności metod przewidywania struktury białek.

W pracy P2 prezentującej serwer *BioShell Treader* (NAR), doktorant jest co prawda drugim autorem, ale wkład jego wiedzy i pracy z sukces tego serwera jest niewątpliwy – uczestniczył On w testowaniu serwera (jakże niewdzięczna a ważna praca!), porównywaniu wyników z wynikami innych serwerów (tutaj potrzebna jest biegłość komputerowa) oraz tworzeniu interfejsu webowego (wiedza informatyczna i umiejętności programistyczne).

Sądzę że największym osiągnięciem oryginalnym mgr. M. Błaszczuka w prezentowanym cyklu prac jest opisany w publikacji P4 (NAR , pierwszy autor) serwer *CABS-fold*. Podana jest tutaj nowa procedura, a w zasadzie metoda modelowania, tj. dochodzenia do struktury 3D z sekwencji wykorzystująca modelowanie konsensusowe. Nie jest to prosty zlepek technik, a raczej przemyślany system (*pipeline*) prowadzący od sekwencji do sugerowanej struktury 3D, oparty na najlepszych dostępnych technikach i metodach. Wyniki mogą być poddawane dalszym analizom, serwer działa i jest wykorzystywany tysiące razy. Samo stworzenie takiego narzędzia, przetestowanie, ocena jakości byłoby moim zdaniem wystarczającym zadaniem na całkiem niezłą pracę doktorską. A jest to tylko część dokonań p. mgr M. Błaszczuka. Mimo poszukiwań nie znalazłem w opisie *CABS-fold* (str. 47, praca P4) pewnych, moim zdaniem istotnych, informacji:

- (1) Jakie są ograniczenia na rozmiar białka?
- (2) Ile maksymalnie domen można modelować?
- (3) Czy da się uwzględnić grupy prostetyczne?
- (4) Czy serwer radzi sobie z post-translacyjnymi modyfikacjami aminokwasów?

Dla mnie osobiście najbardziej obiecujący wydaje się serwer *CABS-dock*, P6 i P7, (cieszy się on też jeszcze większą popularnością niż *CABS-fold*) ponieważ daje możliwości rozwijania nowych obszarów badań – dokowania dużych peptydów do białek. Wydaje się, że tutaj wiodącą rolę mieli inni autorzy (M. Kurcinski, S. Kmiecik, ..) jednak udział doktoranta w powstaniu tego serwera oraz publikacji w NAR nie był techniczny: uczestniczył On w przygotowaniu metody, testowaniu metody i programu, pisał dokumentację i instrukcje, podawał przykłady.

Z pozostałych prac „konferencyjnych” zwróciły moją szczególną uwagę pozycje P9 i P11 oraz P10. W P9 i P11 autorzy pokazują jak uwzględniać w modelowaniu dane eksperymentalne (SAXS, Phi Values). W P10 dają „*proof-of-concept*”, że modelowanie gruboziarniste metodą CABS też się nadaje do wykonywania eksperymentów w duchu sterowanej dynamiki molekularnej, a więc do modelowania ważnego procesu mechanicznego rozplatania białek. Oczywiście wartości sił tak uzyskanych są na obecnym etapie nierealistyczne, potencjały stosowane celowane są w reprodukcje struktury 3D, a nie fizycznych oddziaływań, jednak sam proces rozplatania, opisywany tak „egzotycznym” polem gruboziarnistym jak CABS może być konfrontowany teraz z wynikami innych metod i pól siłowych. Daje to cenne, nowe możliwości badawcze i mgr M. Błaszczuk też się do tego przyczynił.

Strona edytorska rozprawy jest bardzo dobra. Chętnie wypisałbym zwyczajową długą listę błędów ortograficznych typograficznych czy stylistycznych, ale ich w rozprawie w zasadzie nie znalazłem. Tylko w jednej pozycji bibliograficznej znalazłem podejrzaną wyrażenia : J.T.P.D..a E. Munk (str. 78). Zdarzają się wyrażenia żargonowe czy kalki z j. ang. („proteiny” str. 86), jest błąd w oznaczeniu buletu nr. 6 na Fig.1 w publikacji NAR 2012, vol. 40 W259 (praca P2), są to jednak drobiazgi. Rysunki wykonane są bardzo starannie i przede wszystkim są przemyślane, pokazują to co należy pokazać (może poza Rys. 13, który ma moim zdaniem zbyt cienkie linie na schemacie blokowym). Opisy są zwięzłe i krytyczne.

Pragnę zaznaczyć, że zawarte w recenzji uwagi krytyczne nie pomniejszają mojej bardzo wysokiej oceny całości badań i poziomu rozprawy. Pracę pod względem zawartości merytorycznej, ważności osiągniętych rezultatów, poziomu naukowego i sposobu prezentacji oceniam bardzo wysoko.

Podsumowanie i konkluzja

Uważam, że w ramach prowadzonych badań i przedstawionej rozprawy doktorskiej mgr Maciej Błaszczyk uzyskał nowe, oryginalne i pożyteczne rezultaty. Opracował szereg narzędzi komputerowych służących do przewidywania lub wspomagania przewidywania struktury białek. Przyczynił się do powstania nowatorskiego serwera przewidującego miejsca dokowania peptydów do białek. Swoją pracą, wysiłkiem własnym i zespołu rozszerzył możliwości badawcze chemii teoretycznej. Opisane badania lokują się w ciągle aktualnym nurcie światowych wysiłków zmierzających do rozwiązania ważkiego problemu zwijania białek. Ich znaczenie wychodzi poza chemię i obejmuje biofizykę, biologię molekularną, bioinformatykę strukturalną. Stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr. Macieja Błaszczyka "Metody teoretyczne przewidywania struktury białek oraz ich kompleksów z peptydami" stanowi oryginalne rozwiązanie kilku problemów naukowych, demonstruje wiedzę doktoranta w naukach chemicznych, zwłaszcza chemii teoretycznej i modelowaniu komputerowym oraz wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, tj. spełnia w zupełności wymagania ustawowe [Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, ze zm. w Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365 oraz w Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455 z późn. zm.)] i zwyczajowe stawiane rozprawom doktorskim. **Wnoszę zatem o dopuszczenie Pana magistra Macieja Błaszczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Uważam, że znaczenie prowadzonych badań dla społeczności światowej walczącej o jak najpełniejszy opis teoretyczny struktury przestrzennej białek, pomysłowość w tworzeniu metod, zakres osiągnięć softwarowych, pożytek dla wielu grup badawczych wynikający z prowadzonych badań i prac rozwojowych, liczne publikacje (>5 z IF >5) w czołowych periodykach naukowych stanowią oczywistą podstawę do uznania tej rozprawy doktorskiej za wyróżniającą i niniejszym stawiam formalny wniosek o wyróżnienie tej rozprawy zgodnie z panującymi na Wydziale Chemii UW zwyczajami. Do recenzji załączam osobny dokument z uzasadnieniem wniosku o wyróżnienie rozprawy.

W. Nowak

Toruń, 22 grudnia, 2015

Prof. zw. dr hab. Wiesław Nowak
Zespół Teoretycznej Biofizyki Molekularnej
Instytut Fizyki
Uniwersytet M. Kopernika w Toruniu
87-100 Toruń, ul. Grudziądzka 5

**UZASADNIENIE wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej
mgr Macieja Błaszczyka
pt.**

“Metody teoretyczne przewidywania struktury białek oraz ich kompleksów z peptydami

1. Praca doktorska mgr Macieja Błaszczyka oparta jest z cyklu 11 publikacji naukowych – są to dwie prace przeglądowe i 9 prac prezentujących wyniki oryginalne. W cyklu tym są **3 publikacje z czołowym periodyku specjalistycznym Nucleic Acid Research (IF 8-9)**. W pracach tym mgr Błaszczyk jest I, II lub III autorem. 5 prac ma charakter pokonferencyjny, ale zawierają one oryginalne rezultaty i mają zasięg międzynarodowy. Wyniki doktoranta zostały zatem poddane surowej weryfikacji przez specjalistów z dziedziny modelowania. Uważam, że uzyskanie tak znaczącego dorobku publikacyjnego przekracza typowe sytuacje spotykane przy współczesnych doktoratach i jest częściowym argumentem z wyróżnieniem.
2. Doktorant w ramach swojej rozprawy brał znaczący udział w opracowaniu 3 serwerów służących społeczności światowej. Wymagało to nadzwyczajnego nakładu pracy. Serwery są odwiedzane tysiące razy przez uczonych z całego świata, ich działanie poddawane jest nieustannej kontroli społeczności światowej. W Polsce mało jest serwerów o tej randze. Serwery przyczyniają się do badań konkretnych białek w konkretnych zagadnieniach biologicznych, służą odkrywaniu wiedzy na wielu płaszczyznach. Zatem tutaj głównym argumentem za wyróżnieniem jest zauważalny **wkład (dokonany wraz z zespołem prof. Kolińskiego) do nauki światowej** w postaci dostarczenia 3 nowych narzędzi badawczych (otwarty dostęp).
3. Zaproponowane metody są pomysłowe i skuteczne w przewidywaniu struktur 3D z 1D białek. Doktorant (wraz z zespołem) osiągnął pewnych kategoriach b. dobre wyniki w światowym konkursie/eksperymentcie CASP9 (2010). Prace te przybliżają nas do rutynowego przewidywania zwoju białek metodami komputerowymi. Prace doktoranta **mają duże znacznie praktyczne** i będą na pewno cytowane szeroko.

Dlatego stawiam formalny wniosek o wyróżnienie tej rozprawy zgodnie z panującymi na Wydziale Chemii UW zwyczajami.

W. Nowak



ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk
tel. 58 523 5124, fax 58 523 5012, email: adam@sun1.chem.univ.gda.pl

Gdańsk, 16 grudnia 2015

**Recenzja rozprawy doktorskiej
pana magistra Macieja Błaszczyka
pt. „Metody przewidywania struktury białek oraz ich kompleksów z
peptydami”**

Przewidywanie struktury białek oraz ich struktury ich kompleksów z ligandami peptydowymi stanowi w erze postgenomicznej jedno z największych wyzwań biochemii, biologii molekularnej, biofizyki i bioinformatyki. Poznanie struktury oraz dynamiki występujących w żywych organizmach oraz modów wiązania przez nie ligandów stanowi klucz do zrozumienia ich funkcji oraz zaburzeń tych funkcji, które często prowadzą do chorób nowotworowych, neurodegeneracyjnych i innych, które stają się coraz większym problemem społecznym na całym świecie.

Metody eksperymentalne nie nadążają za zapotrzebowaniem na rozwiązywanie struktur białek. Dotychczas w bazie danych jest ich zdeponowanych ok. 110000 podczas, gdy liczba znanych sekwencji białek przekracza 2 miliony. Opracowanie wiarygodnych metod teoretycznych przewidywania struktury białek i ich kompleksów jest zatem palącą potrzebą i tego zagadnienia dotyczy rozprawa doktorska p. mgra Macieja Błaszczyka, którą wykonał on pod kierunkiem światowej sławy naukowca, specjalisty w zakresie teoretycznego modelowania białek, prof. Andrzeja Kolińskiego, oraz dra hab. Sebastiana Kmiecika, który pełnił rolę promotora pomocniczego. Laboratorium prof. Kolińskiego jest jednym z najlepszych w skali światowej jeżeli chodzi o przewidywanie struktury białek oraz symulacje zwijania białek i zastosowania tych symulacji w zrozumieniu procesów o znaczeniu biologicznym.

Rozprawa doktorska p. mgra Macieja Błaszczyka składa się ze wstępu (4 strony), części teoretycznej (18 stron), omówienia wyników badań własnych Autora (28 stron), podsumowania i wniosków (4 strony), bibliografii (108 pozycji) i załącznika, składającego się z 11 publikacji Autora powstałych w wyniku prac nad rozprawą, z czego 5 prac stanowią artykuły w czasopismach z listy ISI (z czego 3 w Nucleic Acid Research, które posiada IF ponad 8), jeden rozdział w książce oraz 1 praca w czasopiśmie spoza listy ISI (TASK Quarterly; numer był poświęcony konferencji CBSB14) a 4 ukazały się w numerze periodyka wydawanym przez Forschungszentrum Juelich, poświęconego konferencji CBSB11. Kandydat jest pierwszym autorem czterech z zamieszczonych w załączniku 11 prac.

Ponieważ materiał rozprawy jest oparty na publikacjach Kandydata, które zostały już merytorycznie ocenione przez niezależnych (a sądząc z renomy większości czasopism, w których je opublikowano bardzo ostrych) recenzentów, moje zadanie jako recenzenta rozprawy rozumiem jako ocenę czy zakres i tematyka przeprowadzonych badań oraz jego

udział w nich kwalifikuje Kandydata do dopuszczenia do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie chemii oraz ocenę formy głównego tekstu rozprawy.

We wstępie Kandydat przedstawia problem przewidywania struktur białek oraz ich kompleksów z peptydami w kontekście biologii oraz medycyny molekularnej. Przedstawia również trudności w rozwiązaniu tego problemu oraz sposób ich obejścia jakim jest zastosowanie modeli gruboziarnistych oraz modelowania porównawczego białek oraz definiuje cel pracy, którym było opracowanie narzędzi do przewidywania struktury oraz symulacji dynamiki białek. Kandydat używał modelu CABS (CA α , CB β , Side Group) opracowanego w zespole prof. Kolińskiego. W tym modelu centrami oddziaływań są atomy węgla α , atomy węgla β , scalone łańcuchy boczne oraz scalone grupy peptydowe, leżące w połowie odległości między kolejnymi atomami C α . Potencjały oddziaływań w modelu CABS, w przeciwieństwie do większości modeli gruboziarnistych, zawierają jawne wkłady wielociałowe, które są niezbędne do modelowania elementów regularnej struktury drugorzędowej. Dostępną dla centrów oddziaływań przestrzenią są węzły wysokorozdzielczej siatki sześcienniej, co znakomicie przyspiesza obliczenia z uwagi na możliwość wcześniejszego obliczenia i przechowania wkładów do energii, a symulacje są prowadzone metodą Monte Carlo w wersji kanonicznej oraz z wymianą replik.

W części teoretycznej Autor omawia metody eksperymentalne wyznaczania struktur białek, metody przewidywania struktur białek oparte na modelowaniu homologicznym i fizycznym oraz zastosowanie modeli gruboziarnistych do rozwiązywania tego zagadnienia, w szczególności model i pole siłowe CABS, które stosował w swojej pracy. Następnie omawia metodę Monte Carlo próbkowania przestrzeni konformacyjnej wraz z jej wariantem wymiany replik, metody analizy skupień, konwersję reprezentacji gruboziarnistej do pełnoatomowej oraz optymalizację końcowych modeli. Ta część rozprawy jest napisana bardzo konkretnie i jasno i może dać wyobrażenie o stosowanej metodologii nawet czytelnikowi niewprowadzonemu wcześniej w zagadnienia modelowania białek.

Prace wykonane przez Kandydata w ramach rozprawy doktorskiej oraz ich wyniki, które są omówione w części poświęconej wynikom można streścić następująco:

1. Współtworzenie serwerów do identyfikacji szablonów do modelowania porównawczego (BioShell, Threader), do przewidywania struktury przy użyciu gruboziarnistego modelu CABS (CABS-fold) oraz do dokowania peptydów do białek (CABS-dock). Opracowane do przewidywania struktur (m.in. przez Kandydata) metody są zintegrowanym podejściem zawierającym elementy modelowania porównawczego i ad initio. Serwer CABS-fold był odwiedzany od czasu utworzenia ponad 4000 razy i uruchomiony przez użytkowników 2400 razy a serwer CABS-dock był odwiedzany 3250 razy i wykorzystany do prowadzenia symulacji ponad 1600 razy.
2. Sprawdzenie metody przewidywania struktury białek w eksperymencie CASP9, w którym Kandydat wziął udział jako kierownik grupy LTB. Grupa uzyskała najlepsze modele dla 5 celów przewidywań; lepszy wynik (najlepsze modele dla 6 celów) uzyskała tylko jedna grupa. W ogólnym rankingu grupa LTB zajęła 28 miejsce na 127 grup.
3. Opracowanie metody opartej na polu CABS, umożliwiającej badanie stanów okolonatywnych.
4. Wprowadzenie danych SAXS jako więzów do programu BioShell, w celu określenia orientacji domen.

Lektura tekstu rozprawy i załączonych publikacji nie pozostawia żadnych wątpliwości, że cel rozprawy został zrealizowany z nawiązką. Kandydat wykonał ogromną pracę tworząc i

ulepszając oparte na polu CABS narzędzia do przewidywania struktury i badania dynamiki białek.

Liczba publikacji Kandydata załączona do rozprawy jest imponująca. Moim zdaniem nie wszystkie jednak powinny być do rozprawy włączone ponieważ znajdują się tam dwie prace przeglądowe (prace 1 i 5) na temat badań przeprowadzonych przez Kandydata. Uważam, że jako załączniki do rozprawy doktorskiej powinny być dołączone wyłącznie oryginalne publikacje Kandydata. Całościowo wyniki są przecież omówione w tekście rozprawy. Ponadto tematyka pracy 11 ma luźny związek z materiałem przedstawionym w rozprawie. Lektura rozprawy nie pozostawia żadnych wątpliwości, że w każdej z prac Kandydat miał wiodący lub co najmniej bardzo istotny udział. Uważam jednak, że lista publikacji na str. 84-86 powinna zawierać informację o wkładzie Kandydata do każdej z nich tak, aby nie trzeba było tej informacji szukać w całym tekście rozprawy.

Podsumowując, rozprawę doktorską p. mgra Macieja Błaszczyka uważam za wyróżniającą. Wymienione powyżej drobne uwagi krytyczne, nie umniejszają w żadnym stopniu jej wartości. Autor wykonał ogromną pracę nad utworzeniem i przetestowaniem narzędzi do automatycznego przewidywania struktury białek oraz ich kompleksów z peptydami w oparciu o pole CABS. Rozprawa spełnia z należytą należytą wymaganiami stawiane rozprawom doktorskim przez **Ustawę z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki** (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.), jak również zwyczajowe standardy stawiane rozprawom doktorskim w dziedzinie nauk przyrodniczych i ścisłych. Dlatego z pełnym przekonaniem zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie p. mgra Macieja Błaszczyka do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę ogrom i wysoki profesjonalizm wykonanej pracy, znakomitą jakość wyników, znaczenie wyników dla modelowania białek wnoszę o wyróżnienie rozprawy. Szczegółowe uzasadnienie wniosku o wyróżnienie stanowi załącznik do niniejszej recenzji.



prof. dr hab. Józef Adam Liwo



ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk
tel. 58 523 5124, fax 58 523 5012, email: adam@sun1.chem.univ.gda.pl

Gdańsk, 16 grudnia 2015

**Uzasadnienie wniosku o wyróżnienie rozprawy doktorskiej
pana magistra Macieja Błaszczyka
pt. „Metody przewidywania struktury białek oraz ich kompleksów z
peptydami”**

Postawiony w recenzji przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej pana magistra Macieja Błaszczyka uzasadniam następująco:

1. Utworzenie przez Autora w ramach prac nad rozprawą profesjonalnych narzędzi do modelowania struktur i dynamiki białek i ich kompleksów z peptydami w oparciu o połączenie modelowania homologicznego z modelowaniem swobodnym przy pomocy dynamiki Monte Carlo w polu CABS, z możliwością użycia danych eksperymentalnych takich jak dane SAXS oraz udostępnienie tych narzędzi w formie serwera.
2. Duża użyteczność wytworzonych narzędzi przejawiająca się w wielokrotnych odwiedzinach serwera przez użytkowników oraz wykorzystanie go do symulacji białek oraz ich kompleksów.
3. Opublikowanie wyników zawartych w rozprawie w postaci 11 (!) prac w tym 9 oryginalnych i 4 gdzie Kandydat jest pierwszym autorem, co jest wybitnie dużym dorobkiem naukowym dla kandydata do stopnia doktora nauk chemicznych, w czasopiśmie i wydawnictwach międzynarodowych, w tym czasopiśmie o bardzo dużym współczynniku wpływu.
4. Wysoki profesjonalizm przeprowadzonych badań i ogrom włożonych w nie pracy.

Uważam, że wymienione powody z nawiązką wystarczają do wystąpienia przeze mnie o wyróżnienie rozprawy.

Z poważaniem,


Prof. dr hab. Józef Adam Liwo