

Wrocław, 12.10.2016

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Kulczyckiej-Mierzejewskiej pt.
„Investigation of interactions of lincosamides with bacterial ribosome using
computational modelling methods.”**

Bakteriobójcze działanie antybiotyków jest jednym z najważniejszych wyzwań współczesnej medycyny i farmakologii. Niestety, powszechne stosowanie antybiotyków przyczynia się do wzrostu oporności szczepów bakteryjnych na używane antybiotyki. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Katarzyny Kulczyckiej-Mierzejewskiej w pewien sposób nawiązuje do tego problemu i stanowi bardzo dobry przykład zastosowania współczesnych metod chemii obliczeniowej do badania właściwości i działania antybiotyków.

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Katarzyny Kulczyckiej-Mierzejewskiej pt. „Investigation of interactions of lincosamides with bacterial ribosome using computational modelling methods” powstała pod kierunkiem prof. dr hab. Joanny Sadlej z Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego oraz dr hab. prof. UW Joanny Trylskiej z Centrum Nowych Technologii Uniwersytetu Warszawskiego.

Obiektem badań były antybiotyki z grupy linkozamidów, których działanie polega na hamowaniu syntezy białek bakteryjnych zachodzących na rybosomie. Dlatego celem recenzowanej rozprawy doktorskiej było określenie właściwości strukturalnych i energetycznych cząsteczek takich linkozamidów jak klindamycyna, linkomycyna oraz pyrlimycyna a także wyjaśnienie wewnętrznej dynamiki cząsteczki klindamycyny (w próżni i w wodnym otoczeniu) jak również opis oddziaływania klindamycyny z natywnym i zmutowanym (A2058G) fragmentem rybosomu bakteryjnego. Uważam, że podjęta w rozprawie tematyka badawcza jest bardzo ważna i niezwykle aktualna a wszystkie cele rozprawy doktorskiej zostały w pełni zrealizowane. Recenzowana rozprawa doktorska jest bardzo dobrym przykładem zastosowania współczesnych metod chemii obliczeniowej do zagadnień związanych z aktywnością antybiotyków. W badaniach zastosowano szeroki wachlarz współczesnych metod chemii obliczeniowej takich jak opartych na teorii funkcjonałów gęstości oraz pełnoatomowej i hybrydowej dynamice molekularnej oraz dynamice molekularnej *ab initio* Born-Oppenheimera.

Wyniki badań z rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w dwóch pracach w Journal of Molecular Modelling a jedna praca została wysłana do druku. Ponadto Doktorantka jest współautorką dalszych 3 prac naukowych, które nie wchodzą w skład rozprawy doktorskiej, a także licznych wystąpień konferencyjnych.

Rozprawa doktorska została napisana w języku angielskim, liczy 146 stron i jest podzielona na sześć rozdziałów. W bibliografii umieszczono 126 odnośników literaturowych.

Rozdział pierwszy to stosunkowo krótkie, lecz wystarczająco wyczerpujące wprowadzenie w tematykę rozprawy. W rozdziałach drugim i trzecim zostały krótko scharakteryzowane metody obliczeniowe użyte w badaniach naukowych oraz szczegóły techniczne związane z obliczeniami. W rozdziale czwartym zostały przedstawione uzyskane rezultaty a wnioski wynikające z otrzymanych rezultatów zamieszczono w rozdziale piątym.

W rozprawie przedstawiono sporo bardzo wartościowych i oryginalnych wyników badań teoretycznych. W rozdziale 4.1 Doktorantka zaprezentowała wyniki badań właściwości strukturalnych i energetycznych pojedynczych cząsteczek linkozamidów tj. klindamycyny, linkomycyny i pirlimycyny. Dla każdego z antybiotyków Doktorantka rozpatrywała dwa konformery wybrane na podstawie analizy struktur zamieszczonych w Protein Data Bank. Dla wszystkich badanych linkozamidów obliczenia metodą B3LYP z bazą funkcyjną 6-31G** wykazały, że bardziej stabilny był konformer B. Szczególnie dużą różnicą energetyczną między konformerami została zaobserwowana dla cząsteczki klindamycyny. Doktorantka określiła bardzo ważną rolę wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych w izolowanej cząsteczce a także w otoczeniu wodnym. Otrzymane wnioski z obliczeń statycznych zostały dodatkowo wsparte analizą oddziaływań za pomocą metod NBO i AIM.

Do dalszych badań Doktorantka wybrała cząsteczkę klindamycyny czyli antybiotyku o najlepszych właściwościach farmakokinetycznych spośród badanych linkozamidów, co uważam niezwykle słuszny wybór.

W dalszej części rozprawy zostały przedstawione symulacje metodami dynamiki molekularnej cząsteczki klindamycyny w celu uzyskania informacji na temat wewnętrznej dynamiki a w szczególności zbadania przejścia pomiędzy konformerami oraz określeniu wpływu otoczenia. Symulacje przeprowadzono różnymi wariantami metody dynamiki molekularnej. I tak Doktorantka zastosowała dynamikę molekularną *ab initio* Born-Oppenheimera (BOMD) dla cząsteczki w próżni. W celu uwzględnienia wpływu otoczenia wodnego zastosowała hybrydową QM/MM dynamikę molekularną oraz pełnoatomową dynamikę molekularną (FAMD) opartą na klasycznym polu sił. Na podstawie analizy symulacji metodami BOMD i FAMD Doktorantka

zaobserwowała przejścia strukturalne między konformerami cząsteczki klindamycyny. Takiego przejścia confirmacyjnego nie zaobserwowała w symulacjach metodą QM/MM mimo, iż czas symulacji wynosił 50 ps. Pojawia się w tym miejscu pytanie – dlaczego dynamika molekularna oparta na QM/MM nie pokazała tego procesu? W rozprawie doktorskiej nie znalazłem próby wyjaśnienia tego wyniku.

Realizując tematykę rozprawy Doktorantka przystąpiła do badań fragmentu rybosomu zawierającego miejsce wiązania klindamycyny za pomocą FAMD koncentrując się na formie natywnej oraz zmutowanej a przede wszystkim na ich kompleksach z klindamycyną. Badania koncentrowały się na analizie dynamiki wewnętrznej, struktury geometrycznej oraz oddziaływaniu z cząsteczką antybiotyku. Uważam, że najważniejszym osiągnięciem Doktorantki było wykazanie, że cząsteczka klindamycyny tworzy stabilniejszy kompleks ze zmutowanym rybosomem niż z formą natywną. Ponadto struktura kompleksu klindamycyny ze zmutowanym fragmentem rybosomu różni się od kompleksu z formą natywną. Również niezwykle istotnym wnioskiem jest wykazanie, że nie blokuje syntezy białek bakteryjnych.

Podsumowując swoją opinię o pracy chciałbym wyraźnie stwierdzić, że bardzo wysoko oceniam poziom naukowy rozprawy doktorskiej. Rozprawa zawiera nowe i oryginalne badania naukowe. Doktorantka swobodnie posługiwała się metodami chemii obliczeniowej. Na wyraźnie podkreślenie zasługuje przejrzysta forma rozprawy doktorskiej. Przyjęte w rozprawie doktorskiej modele układów molekularnych były bardzo przemyślane. Doktorantka rozpoczęła badania od właściwości izolowanych cząsteczek antybiotyków, następnie powiększała model molekularny np. przez dodanie wpływu otoczenia wodnego aż doszła do bardzo dużego układu tj. kompleksu klindamycyny z fragmentem rybosomu.

Przechodząc do końcowej oceny recenzowanej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że stanowi ona bardzo wartościowy wkład do badań związanych aktywnością antybiotyków a uzyskane rezultaty mogą być także przydatne przy projektowaniu nowych antybiotyków.

Biorąc pod uwagę nowatorską problematykę badawczą a także bardzo wysoki poziom badań naukowych przedstawionych w rozprawie doktorskiej w konkluzji wyraźnie stwierdzam, że przedstawiona przez Doktorantkę rozprawa spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz naukowych stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki* (Dz.U. nr 65 z 14.03.2003 r., poz. 595, oraz Dz.U. nr 164 z 27.07.2005 r., poz.1365 wraz z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie mgr Katarzyny Kulczyckiej-Mierzejewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę bardzo wysoki poziom badań naukowych, szereg uzyskanych niezwykle istotnych wyników naukowych a także to, że w większości wyniki badań zostały już opublikowane w bardzo dobrym czasopiśmie naukowym wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Kulczyckiej-Mierzejewskiej.



prof. dr hab. Zdzisław Latajka