



INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY IN WARSAW

CENTRE OF EXCELLENCE IN MOLECULAR BIO-MEDICINE

Warszawa, dnia 30.05.2014

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Mateusza Kurcińskiego „Modelowanie oddziaływań białek i peptydów w zredukowanej przestrzeni konformacyjnej”

Praca przedstawiona mi do recenzji została wykonana w Pracowni Teorii Biopolimerów Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Promotorem pracy jest prof. dr hab. Andrzej Koliński, który od lat zajmuje się komputerowymi analizami struktury i dynamiki makrocząsteczek biologicznych i jest uznanym ekspertem w tej dziedzinie.

Przedstawiona rozprawa prezentuje zastosowanie metod modelowania komputerowego do przewidywania struktur i oddziaływań białek i peptydów. W szczególności Autor skupił się na zaadaptowaniu metody CABS opracowanej przez prof. Kolińskiego i jego współpracowników do symulowania oddziaływania białek i peptydów ze sobą. CABS należy do metod tzw. gruboziarnistych, czyli opartych o modele zredukowane. Metoda ta oparta jest o dyskretny model siatkowy i wykorzystuje procedurę Monte Carlo do przeszukiwania przestrzeni rozwiązań oraz potencjał statystyczny do przybliżonej oceny energii swobodnej odpowiadającej poszczególnym konformacjom. W podejściu tym rozpuszczalnik jest traktowany niejawnie.

W kilku ostatnich edycjach międzynarodowego eksperymentu polegającego na testowaniu metod służących do komputerowego przewidywania struktury białka (ang. Critical Assessment of techniques for protein Structure Prediction, CASP), które odbywają się co dwa lata, grupy używające metodę CABS osiągnęły bardzo wysokie wyniki. Muszę zaznaczyć, że sam brałem udział w CASP m.in. dwukrotnie we współpracy z prof. Kolińskim, ale jestem przekonany, że przedstawioną przez doktoranta rozprawę mogę ocenić bezstronnie.

Struktura rozprawy

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska została podzielona na następujące rozdziały: I Cel Pracy, II Podstawy Teoretyczne, III CABS Dock – opracowanie automatycznej procedury dokowania białko-białko w zredukowanej przestrzeni konformacyjnej, IV Modelowanie kompleksów białkowych – uzyskane wyniki, V Podsumowanie i wnioski końcowe, VI Prace cytowane i VII Prace stanowiące podstawę rozprawy (P.I-P.VI). Cała rozprawa ma ponad 148 stron, z czego ok 68 stron stanowią załączone publikacje. Opublikowane prace są w języku angielskim, główna część rozprawy napisana jest w języku polskim.



INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY IN WARSAW

CENTRE OF EXCELLENCE IN MOLECULAR BIO-MEDICINE

Rozdział „Cel Pracy” w jasny sposób formułuje cele projektu. Rozdział „Podstawy Teoretyczne” obejmuje wprowadzenie do metod doświadczalnych i teoretycznych służących do ustalania struktur makrocząsteczek biologicznych i ich kompleksów. Rozdział „CABSDock – opracowanie automatycznej procedury dokowania białko-białko w zredukowanej przestrzeni konformacyjnej” stanowi opis metod rozwijanych w ramach projektu. Kolejny rozdział, „Modelowanie kompleksów białkowych – uzyskane wyniki” podzielono na sześć podrozdziałów, z których każdy opisuje wyniki uzyskane w niezależnej publikacji. Pięć podrozdziałów zgrupowano pod jednym podtytułem „dokowanie białko-peptyd”, jeden podrozdział dotyczy tematu „dokowanie białko-białko”. Po wynikach umieszczono krótkie podsumowanie, a właściwie streszczenie sześciu zrealizowanych projektów, opisano też zwięźle plany na przyszłość. Ostatni rozdział zawiera kopie oryginalnych angielskojęzycznych publikacji, tzn. zasadniczo ten sam materiał, co polskojęzyczny rozdział opisujący wyniki.

Opis wyników zawartych w rozprawie:

Celem pracy doktorskiej było stworzenie automatycznej procedury dokowania białek, która pozwalałaby na symulowanie procesu tworzenia się kompleksów białkowych z zachowaniem pełnej giętkości oddziałujących cząsteczek. Początkowo zamierzano wykorzystać algorytm CABS do próbkowania całej przestrzeni konformacyjnej, ale ze względów pragmatycznych zdecydowano się na połączenie tego podejścia z innymi rozwiązaniami. W końcowym kształcie metoda opracowywana przez doktoranta urosła do wielostopniowej, automatycznej procedury. Dokowanie za pomocą CABSDock składa się z czterech głównych etapów:

- 1) procedura sztywnego dokowania za pomocą publicznie dostępnego programu FTDOCK, w wyniku której generowanych jest 10000 zgrubnych struktur kompleksów,
- 2) selekcja 20 modeli dokonywana na podstawie rankingu opartego o funkcję oceny przybliżającą zmianę energii swobodnej układu, w której energia wewnętrzna przybliżana jest za pomocą pola siłowego modelu CABS, natomiast wkład entropii do przybliżany jest w procesie analizy skupień wszystkich 10000 modeli,
- 3) symulacja 20 modeli za pomocą modelu CABS,
- 4) wybór ostatecznych 5 modeli z użyciem analizy skupień, konwersja do reprezentacji pełnoatomowej i minimalizacja energii w empirycznym polu siłowym za pomocą pakietu Gromacs.

Kluczowym elementem procedury CABSDock jest zastosowanie modelu CABS w roli zarówno narzędzia służącego do generowania jak i oceniania struktur kompleksów.



INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY IN WARSAW

CENTRE OF EXCELLENCE IN MOLECULAR BIO-MEDICINE

Model CABS został w pierwotnej wersji zaprojektowany do symulowania dynamiki pojedynczych łańcuchów białkowych. Jednym z głównych osiągnięć w prezentowanej pracy jest zaadaptowanie tej metody do symulacji dynamiki wielu łańcuchów. Program CABS, zmodyfikowany do symulowania białek wielołańcuchowych, udostępniono publicznie pod adresem www.biocomp.chem.uw.edu.pl/tools/cabsdock

W pracy P.II (w *Journal of Molecular Modeling*, w której pan Kurciński i jego promotor są jedynymi autorami) przedstawiono schemat modelowania wielkoskalowego, którego centralnym punktem jest symulacja dokowania za pomocą CABS.

Otrzymaną metodę przetestowano do realizacji praktycznych zadań, m.in. do modelowania trójwymiarowych struktur kompleksów receptorów jądrowych i peptydów imitujących czynniki transkrypcyjne (w pracy P.I, w *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, w której pan Kurciński i jego promotor są także jedynymi autorami).

W pracy P.III (także w *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, w której pan Kurciński i jego promotor są także jedynymi autorami) użyto modelowania do zbadania mechanizmu aktywacji Receptor α kwasu 9-cis retinowego (RXR α) przez cząsteczki kwasu 9-cis retinowego i peptydu będącego fragmentem koaktywatora TRAP220, w szczególności poszukiwano odpowiedzi na pytanie w jakiej kolejności przyłączają się do receptora agonista i koaktywator. Model CABS pozwala na symulowanie jedynie polipeptydów, więc obecność bądź nieobecność agonisty została odwzorowana za pomocą wykorzystania więzów odległości narzuconych na niektóre reszty receptora.

W pracy P.IV zbadano mechanizm związania się białka nieustrukturyzowanego pKID w trakcie tworzenia kompleksu z domeną KIX białka CREB. W tej pracy pan Kurciński jest pierwszym autorem; praca została złożona do recenzji do *Journal of Chemical Theory and Computations* i przyjęta w czasie kiedy przygotowywałem niniejszą recenzję.

W pracy P.V przeprowadzono analizę zjawiska mimikry molekularnej gangliozydu GD2 przez 5 wyselekcjonowanych wcześniej peptydów, tworzących kompleksy z przeciwciałem 14G2a. W tej pracy pan Kurciński jest drugim autorem spośród siedmiu, praca ukazała się w *International Journal of Molecular Medicine*.

W pracy P.VI CABSdock wykorzystano do skonstruowania pierwszego teoretycznego modelu ludzkiej telomerazy, przeprowadzono wielostopniowe dokowanie kolejnych domen telomerazy oraz fragmentów nici RNA i DNA. Na podstawie uzyskanego modelu zaproponowano mechanizm działania tego kompleksu. Ten mechanizm został poddany krytyce przez inne grupy badające doświadczalnie telomerazę, ale faktem pozostaje, że stworzono model, który umożliwił tego rodzaju dyskusję. W tej pracy pan Kurciński jest trzecim autorem spośród dziewięciu, praca ukazała się w PNAS.



INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY IN WARSAW

CENTRE OF EXCELLENCE IN MOLECULAR BIO-MEDICINE

W krótkim podsumowaniu autor krótko powtarza swoje dokonania opisane w sześciu artykułach oraz podsumowuje najważniejsze plany na przyszłość. Dalsze prace mają być ukierunkowane na wzbogacenie modelu CABS o możliwość badania oddziaływań nie tylko między białkami, ale również innymi cząsteczkami biologicznymi, w szczególności z kwasami nukleinowymi..

Ocena rozprawy

Rozprawa doktorska pana mgr Mateusza Kurcińskiego obejmuje wyniki badań opisanych w sześciu oryginalnych pracach badawczych, spośród których w czterech doktorant jest pierwszym autorem. Oznacza to, że wyniki zawarte w rozprawie znalazły już uznanie w oczach niezależnych recenzentów ww. czasopiśmie. Przedstawione przez doktoranta analizy obejmują przede wszystkim bardzo istotne rozszerzenie funkcjonalności oryginalnej metody CABS. Nie mam większych zastrzeżeń merytorycznych do przedstawionych wyników i chciałbym podkreślić, że moim zdaniem prace wchodzące w skład rozprawy mają dużą wartość zarówno merytoryczną jak i praktyczną. Sądzę, że mogą przydać się w badaniach prowadzonych przez wielu badaczy, także przez mój własny zespół.

Oprócz pochwał mam też uwagi krytyczne. Nie podważają one mojej ogólnie pozytywnej oceny rozprawy ani nie wpływają na moją pełną akceptację wyników przedstawionych w publikacjach, dotyczą jedynie mojej oceny rozprawy jako całości.

Moim zdaniem jedyną znaczącą wadą przedstawionej mi do recenzji rozprawy jest brak obszernego, syntetycznego podsumowania i dyskusji wszystkich otrzymanych wyników jako całości. Sekcja „Podsumowanie i wnioski końcowe” jest bardzo krótka, zaledwie na dwie i pół strony. Brakuje w niej odniesienia się do tego, w jaki sposób prace wchodzące w skład rozprawy stanowią jedno dzieło i w jaki sposób wzajemnie się uzupełniają. Co prawda przedstawione wyniki są ze sobą powiązane, ale w ocenianej rozprawie bardzo brakuje mi obszernego rozdziału, w którym doktorant opisałby dokładnie, w jaki sposób z jego perspektywy przedstawione prace ściśle wiążą się ze sobą i jaka jest wartość dodana całego projektu jako całości względem poszczególnych prac rozpatrywanych oddzielnie. Moim zdaniem najważniejszym elementem każdej rozprawy doktorskiej jest krytyczne przedyskutowanie otrzymanych wyników, przedstawienie ich jako spójnej całości i odniesienie się do stanu wiedzy na świecie oraz do prac prowadzonych w macierzystym zespole, tak, żeby jasne było na ile stanowią one kontynuację wcześniejszych prac i w jaki sposób będą pełniły rolę podstawy do prac w przyszłości. Oczywiście wyniki są dyskutowane niezależnie w każdej z przedstawionych publikacji, ale w tej rozprawie doktorskiej, która powinna stanowić ich syntetyczne ujęcie, zabrakło mi właśnie elementu syntetycznego.



INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY IN WARSAW

CENTRE OF EXCELLENCE IN MOLECULAR BIO-MEDICINE

Chciałbym podkreślić, że moja ocena wyników cząstkowych jest bardzo wysoka, zwłaszcza biorąc pod uwagę pierwszoautorską publikację czterech z sześciu przedstawionych analiz, tylko brak odpowiedniej syntezy jest nieco rozczarowujący.

Drobne uwagi

W rozprawie, zwłaszcza we wstępie, znalazłem szereg niefortunnych sformułowań, niektóre z nich stanowią odejście od rygorystycznego języka naukowego, inne są nadmiernymi uproszczeniami:

Np. sformułowanie "W którąkolwiek stronę ewolucja popchnie organizm" (str. 9) niepotrzebnie wprowadza elementy prozy poetyckiej.

Stwierdzenie, że enzymy "regulują" reakcje biochemiczne uważam za niefortunne (przede wszystkim katalizują te reakcje, funkcje regulatorowe zwykle pełnią inne cząsteczki nieposiadające aktywności enzymatycznych).

"Gdy tylko jednak [polimeraza RNA] przyłączy się do specyficznego regionu w nici DNA, zmienia się jej struktura przestrzenna i rozpoczyna produkcja mRNA" - polimerazy RNA są zaangażowane w produkcję nie tylko mRNA, tylko wielu różnych typów RNA.

"Ludzki organizm zawiera około 25 tys. genów, z których większość koduje jakieś białko" - owszem, około 25 tys. genów w ludzkiej komórce koduje białka (przy czym jeden gen koduje często wiele różnych wariantów białek), ale to tylko niewielki ułamek genomu, który prawie w całości jest transkrybowany, tzn. służy do produkcji RNA.

"Liczba znanych sekwencji białkowych wynosi już blisko 100 mln i dzięki szybkim, tanim i automatycznym metodom sekwencjonowania całych genomów rośnie z roku na rok coraz szybciej" - większość tych sekwencji jest przewidziana komputerowo w oparciu o sekwencję DNA i nie została potwierdzona doświadczalnie.

"Wysiłki genetyków są ukierunkowane na tworzenie map wzajemnych oddziaływań białek" - genetycy raczej zajmują się genami i genomami i ich zmiennością, tworzeniem map wzajemnych oddziaływań białek zajmują się raczej biochemicy i biologowie systemowi.

"Białka w stanie natywnym znajdują się w globalnym minimum energii swobodnej (Anfinsen 1973)." (Str 16). - ta teza jest prawdziwa dla większości, ale nie dla wszystkich białek. Natywne struktury niektórych białek są uwarunkowane przede wszystkim kinetycznie, tzn. poprzez ścieżkę zwijania, a nie tylko termodynamicznie.

Praca napisana jest bez większych błędów językowych, znalazłem tylko kilka drobnych uchybień.

Autor używa spolszczonej formy angielskich zwrotów typu „protein-protein docking”, tzn. np. „dokowanie białko-białko”, podczas gdy taka forma jest gramatycznie niepoprawna, w języku



INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY IN WARSAW

CENTRE OF EXCELLENCE IN MOLECULAR BIO-MEDICINE

polskim poprawne jest sformułowanie „dokowanie białek”, ewentualnie „dokowanie białka do białka”.

Autor używa sformułowania „uliniowienie” jako odpowiednika sformułowania „alignment”. Uważam to sformułowanie za niepoprawne, ponieważ słowo „uliniowienie” sugeruje, że chodzi o rozpatrywanie form liniowych, podczas gdy „alignment” oznacza wynik porównywania dwóch podobnych obiektów (a autorowi w tym wypadku chodzi o struktury białek). W polskojęzycznej literaturze naukowej funkcjonuje słowo „przyrównywanie”, które moim zdaniem jest znacznie bardziej odpowiednim tłumaczeniem pojęcia „alignment” i stosuje się nie tylko do sekwencji, ale też do obiektów przestrzennych, grafów itp., mówi się np o przyrównywaniu struktur, przyrównywaniu szlaków metabolicznych itp.

Zamiast „policzyć” powinno być „wyliczyć” albo „obliczyć”; zamiast „unikalny” powinno być „unikatowy”. Nie podoba mi się sformułowanie „molekuła”, uważam go za makaronizm, w biologii powszechnie używa się słowa „cząsteczka”, ale zdaję sobie sprawę z tego, że w języku chemików mogą obowiązywać inne preferencje.

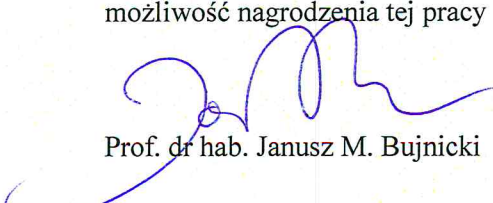
W symbolach związanych ze strukturami chemicznymi takimi jak końce 3' i 5' czy atom O4' autor używa apostrofu (') zamiast symbola prim (').

W pracy zauważyłem też kilka literówek i błędów interpunkcyjnych, ale ich częstotliwość jest mniejsza niż przeciętnie w rozprawach doktorskich, które miałem przyjemność lub obowiązek czytać.

Podsumowanie

Moja ocena przedłożonej do recenzji pracy doktorskiej pana mgr Mateusza Kurcińskiego jest bardzo wysoka. Mając na uwadze wartość merytoryczną pracy, a w szczególności wchodzących w jej skład oryginalnych publikacji, uważam, że spełnia ona warunki określone w art 13. ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym i wnoszę o dopuszczenie przez Wysoką Radę Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wysoki merytoryczny poziom rozprawy, chciałbym także wystąpić o możliwość nagrodzenia tej pracy stosownym wyróżnieniem.


Prof. dr hab. Janusz M. Bujnicki

Warszawa, 30 maja 2014

Dr hab. Joanna Trylska, prof. UW
tel. (22) 5540843
e-mail: joanna@cent.uw.edu.pl

Rada Naukowa
Wydziału Chemii
Uniwersytetu Warszawskiego

Recenzja rozprawy doktorskiej magistra Mateusza Kurcińskiego pt. "Modelowanie oddziaływań białek i peptydów w zredukowanej przestrzeni konformacyjnej"

Rozprawa doktorska magistra Mateusza Kurcińskiego została napisana w Pracowni Teorii Biopolimerów pod kierunkiem prof. dra hab. Andrzeja Kolińskiego. Celem pracy było opracowanie metody i rozszerzenie oprogramowania CABS do przewidywania kompleksów białko-białko oraz białko-peptyd. W wyniku tej pracy autor stworzył automatyczny algorytm i narzędzie do giętkiego dokowania modeli kompleksów białkowych.

Problem przewidywania struktur kompleksów białko-białko jest niezwykle istotny, gdyż nie ma skutecznych metod, które by precyzyjnie przewidywały konformacje takich kompleksów. Białko z drugim białkiem oddziałuje nie tylko na zasadzie komplementarności kształtu dużych powierzchni — istotne są także oddziaływania lokalne, na przykład wiązania wodorowe. Dodatkowy problem stanowi fakt, że aminokwasy wchodzące w oddziaływania białko-białko są umiejscowione na powierzchni białka, w związku z czym są ruchliwe, często naładowane i wystawione na oddziaływanie z cząsteczkami wody.

Rozprawa doktorska mgra Kurcińskiego składa się z pięciu rozdziałów. W pierwszym opisana jest rola białek w przyrodzie z podkreśleniem istotności tworzenia przez białka kompleksów, wyjaśnione jest pojęcie dokowania oraz cel pracy. W drugim rozdziale zawarte są podstawy teoretyczne dokowania oraz opisane metody doświadczalne badania kompleksów białko-białko. Trzeci rozdział opisuje opracowaną przez autora procedurę dokowania białko-białko o nazwie CABSDock. Rozdział czwarty przedstawia układy, dla których autor zastosował tę procedurę oraz wyniki dokowania. Rozprawa zawiera około 130 odnośników do prac innych autorów.

Wynikiem pracy nad rozprawą doktorską magistra Mateusza Kurcińskiego jest sześć publikacji w bardzo dobrych czasopismach naukowych z listy filadelfijskiej. W czterech publikacjach pan Kurciński jest pierwszym autorem, a w trzech z nich jest pierwszym z dwóch autorów, tak więc udział jego w badaniach i pisaniu publikacji jest niepodważalny. Niektóre prace doczekały się już nawet kilkunastu cytowań.

Procedura CABSDock oparta jest na modelu gruboziarnistym opracowanym wiele lat temu przez promotora pracy, prof. Andrzeja Kolińskiego. Jednak model i program były stworzone do symulacji i przewidywania struktury trzeciorzędowej pojedynczych białek. Pan Mateusz Kurciński rozszerzył i model i oprogramowanie, tak aby można było prowadzić symulacje obiektów wielołańcuchowych oraz kilku obiektów na raz, dzięki czemu możliwe jest przewidywanie struktury kompleksów białkowych. Procedura wchodząca w skład CABSDock przeszukuje przestrzeń konformacyjną kompleksów i generuje prawdopodobne struktury, ocenia ich energię oraz dla najniższych energetycznie kompleksów udokładnia ich struktury. Do generowania kompleksów potrzebne są jednak struktury pełnoatomowe pojedynczych izolowanych białek (mogące się składać z wielu łańcuchów), gdyż w pierwszym etapie przeprowadzane jest dokowanie sztywnych pełnoatomowych struktur trzeciorzędowych białek za pomocą znanego programu FTDOCK. Generowanych jest kilka tysięcy konformacji określających wzajemne ustawienie białek lub białka-peptydu. Następnie z tych wstępnych konformacji wybieranych jest 20 ustawień, a wybór realizowany jest już przez model gruboziarnisty CABScore. Energia konformacji kompleksu zawiera człon entalpowy i entropowy. Ten drugi człon — entropowy — wyliczany jest na podstawie analizy klastrów 10000 wcześniej wygenerowanych ustawień pełnoatomowych. Ten sposób wyboru struktur do dalszego giętkiego dokowania jest istotny dla sukcesu procedury. Opisane powyżej pierwsze etapy zostały przetestowane i dobrane na podstawie analizy 160 struktur pełnoatomowych znanych kompleksów.

Giętkie dokowanie dla wybranych dwudziestu kompleksów przeprowadzane jest już w modelu CABS, który jest modelem gruboziarnistym. Do giętkiego próbkowania konformerów kompleksów jeden aminokwas przedstawiony jest w postaci jednego centrum oddziałującego, umieszczonego na węglu CA. Próbkowanie odbywa się techniką Monte Carlo. Białka mają jednak nałożone pewne więzy na ruchliwość, aby w czasie dokowania nie ulegały rozwinięciu. Więzy zostały przetestowane w programie CABSflex. Po ponownej klasteryzacji tak wygenerowanych konformerów kilka struktur jest wybieranych do dalszego udokładniania. W ostatnim etapie odbudowywane są modele pełnoatomowe, a następnie

podlegają one procedurze minimalizacji energii i ewentualnie krótkiej symulacji pełnoatomowej dynamiki molekularnej.

Procedura opracowana przez autora rozprawy łączy w sobie modele pełnoatomowe i gruboziarniste. Takie podejście nie jest typowe a okazało się wysoce skuteczne, zwłaszcza w przypadku dokowania bardzo giętkich peptydów do białek. Peptydy są przeważnie nieustrukturyzowane, więc przewidywanie ich miejsca wiązania i konformacji w receptorze jest niezwykle trudne. W przykładach wybranych przez autora peptydy zostały dobrze zlokalizowane na powierzchni białek. Na podstawie tej procedury można także pokazać jakie są dla danego przypadku mechanizmy tworzenia kompleksów, co jest istotne i ciekawe z punktu widzenia problemu wzajemnego rozpoznawania się molekuł.

Procedura opracowana przez magistra Kurcińskiego działa z sukcesem także dla białek nieustrukturyzowanych (tzw. *disordered proteins*). Są to białka, które w całości (bądź których fragmenty) nie mają dobrze zdefiniowanej struktury trzeciorzędowej w warunkach fizjologicznych. Strukturę taką przyjmują w trakcie lub po utworzeniu kompleksu z innym białkiem. Autor miał też udział w przygotowaniu teoretycznego modelu ludzkiej telomerazy; wykorzystał program CABSDock, aby skonstruować teoretyczny model trzech domen tego enzymu.

Zastosowania procedury dokowania są imponujące i widać ogrom pracy autora w rozwikłanie tej tematyki. Mam tylko kilka drobnych uwag i pytań dotyczących technicznych aspektów metody.

Program CABSDock jest dostępny i można w nim dokować struktury gruboziarniste, natomiast cała przedstawiona przez autora procedura wymaga wielu programów opracowanych w różnych grupach badawczych. Aby tę całą procedurę przeprowadzić trzeba oprócz programów związanych z CABS mieć ścieżki dostępu i oddzielne pliki wejściowe do pozostałych programów np. Gromacs czy FTDOCK. Nasuwa się wobec tego pytanie: czy całość zostanie jakoś połączona i udostępniona użytkownikom? Moim zdaniem do pełnej funkcjonalności metody i wygody użytkownika lepiej by było nie mieć aż tylu niezależnych programów. CABSDock mógłby być jednym pakietem zawierającym skrypt do przeprowadzenia wszystkich etapów procedury dokowania pod warunkiem zainstalowania pozostałych programów. Przy zapewnieniu podręcznika użytkownika powinno być możliwe przeprowadzenie całej procedury dokowania.

Drugie pytanie dotyczy informacji czy planowane jest wprowadzenie specyficznego potencjału dla oddziaływań białko-białko, aby w przypadku dokowania peptydów uniknąć konformacji, w których peptyd jest we właściwym miejscu wiążącym ale w złej konformacji? To byłoby istotne ulepszenie procedury.

Nie jest dla mnie jasne z rozprawy dlaczego w symulacjach giętkiego dokowania CABSDock muszą być nakładane więzy na konformacje białek tj. dlaczego istnieje ryzyko, że białka się rozwiną? W przypadku peptydów takie więzy nie są chyba uzasadnione? Jeśli model CABS działa dla pojedynczych białek właściwie i zachowują one fluktuacje wokół położenia równowagi bez więzów to czy muszą one być nakładane w czasie dokowania?

Klasteryzacja (grupowanie czy analiza skupień) jest w całej procedurze przeprowadzana dwa razy. Czy istotny jest algorytm grupowania i czy wyniki mogłyby od tego algorytmu w istotny sposób zależeć? Autor wybrał najprostszy algorytm grupowania po odległościach (tzw. RMSD) co jest zrozumiałe ale czy to nie jest drugi kluczowy punkt do ewentualnego poprawienia?

Podsumowując rozprawa doktorska Mateusza Kurcińskiego jest poprawna językowo i dopracowana. Znalazłam tylko jedną literówkę. Jest napisana zrozumiale i przejrzystie. Rozprawa stanowi spójną tematycznie całość: opracowanie algorytmu, sparametryzowanie go w oparciu o struktury znanych kompleksów białko-białko, rozszerzenie programu CABS dla układów białek (i to wielołańcuchowych).

Stwierdzam, że rozprawa doktorska magistra Mateusza Kurcińskiego stanowi oryginalne rozwiązanie zagadnienia naukowego, potwierdza ogólną wiedzę teoretyczną w dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez autora. Tym samym recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska spełnia wszystkie warunki ustawy o tytule naukowym i stopniach naukowych. W związku z tym wnoszę o dopuszczenie Mateusza Kurcińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę też o wyróżnienie rozprawy ze względu na ilość publikacji i doskonałe rozwiązanie przez autora tej trudnej tematyki badań.

J. Ryłska

Merytoryczne uzasadnienie wyróżnienia

Wynikiem rozprawy magistra Mateusza Kurcińskiego jest sześć publikacji, w których jego udział jest dominujący. W czterech publikacjach mgr Kurciński jest pierwszym autorem. Jedna praca, w której jego procedura została zastosowana do stworzenia modelu ludzkiej telomerazy została opublikowana w *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.

Pomysł autora na określanie struktur kompleksów białkowych jest nowatorski, gdyż łączy w sobie różne techniki — modele gruboziarniste, pełnoatomowe, oraz analizę skupień. Autor podjął się niesłychanie trudnego zadania polegającego na przewidywaniu kompleksów nieustrukturyzowanych białek oraz białek z udziałem peptydów. Takie układy mają wiele stopni swobody i przewidywanie ich struktur w kompleksach jest wyzwaniem. Białka zawierające nieustrukturyzowane domeny w trakcie tworzenia kompleksu równocześnie się zwijają, czego bez giętkiego dokowania nie da się uchwycić. Autor stworzył uniwersalną procedurę, która może być stosowana zarówno dla układów białko-białko jak i białko-peptyd.

J. Ryłska