



Wrocław, 21.12.2018

RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Krzemińskiej-Kowalskiej pt.
„Theoretical studies of HIV-1 enzymes.”**

Od wielu lat obserwuje intensywne badania, przede wszystkim doświadczalne, prowadzące do uzyskania efektywnych leków zwalczających infekcję wywołaną wirusem HIV-1. Opracowanie takich środków farmakologicznych wymaga dogłębnego zrozumienia procesów zachodzących w cyklu życia tego wirusa. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Krzemińskiej-Kowalskiej nawiązuje do tego problemu i stanowi bardzo dobry przykład zastosowania współczesnych metod chemii obliczeniowej do badania działania enzymów wirusa HIV-1.

Recenzowana rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Krzemińskiej-Kowalskiej pt. „Theoretical studiem of HIV-1 enzymes” powstała pod kierunkiem dr inż. Katarzyny Świderek i prof. dr hab. inż. Piotra Panetha z Międzyresortowego Instytutu Techniki Radiacyjnej Wydziału Chemicznego Politechniki Łódzkiej.

Podstawę rozprawy doktorskiej stanowi cykl 4 prac opublikowanych w bardzo renomowanych czasopismach naukowych o wysokiej wartości IF, a mianowicie: Journal of the American Chemical Society, The Journal of Physical Chemistry B, Physical Chemistry Chemical Physics oraz Archives of Biochemistry and Biophysics a także opis badań nad integrasą wirusa HIV-1 (co chyba będzie przedmiotem publikacji w najbliższym czasie). Załączone oświadczenia współautorów świadczą o bardzo ważnej roli Doktorantki w tych publikacjach. Ponadto Doktorantka jest współautorką dalszych 4 publikacji naukowych, które nie wchodzi w skład rozprawy doktorskiej, a także 10 prezentacji konferencyjnych w tym 1 wystąpienia ustnego.

Rozprawa doktorska została napisana w języku angielskim. W bibliografii umieszczono 169 odnośników literaturowych.

W rozprawie Doktorantka zdefiniowała trzy główne cele badawcze, a mianowicie:

- zbadanie mechanizmu reakcji katalizowanej przez proteazę,
- wskazanie specyficznych oddziaływań inhibitorów z odwrotną transkryptazą,
- określenie mechanizmu reakcji zachodzącej w centrum aktywnym integrazy.

Był to bardzo przemyślany wybór ponieważ te enzymy są kluczowe w cyklu życia wirusa HIV-1. Należy również podkreślić, że wyżej zdefiniowane cele badawcze zostały w pełni zrealizowane przez Doktorantkę.

Współczesne metody modelowania molekularnego oparte na zaawansowanych metodach chemii kwantowej i mechaniki molekularnej (opartych na wiarygodnych polach siłowych) pozwalają na niezwykle szczegółową analizę procesów chemicznych. Bardzo ważnym elementem teoretycznego modelowania jest odpowiedni wybór modelu do obliczeń. Jest to zazwyczaj wynik kompromisu między wielkością rozpatrywanego układu, czasem symulacji lub obliczeń komputerowych i dokładnością uzyskanych wyników. Doktorantka poradziła sobie bardzo dobrze z tym zadaniem. Wybrane do obliczeń metody są bardzo wiarygodne. Również przyjęte układy do modelowania są bardzo reprezentatywne. W szczególności mam na myśli metodę QM/MM i dokonanie odpowiedniego podziału na część kwantową i klasyczną. Niezwykle ważnym elementem rozprawy doktorskiej było zastosowanie metod pozwalających na obliczenie kinetycznych efektów izotopowych, co umożliwiło porównanie z dostępnymi danymi doświadczalnymi a także na określenie najefektywniejszych ścieżek reakcji oraz ograniczającego szybkość reakcji stanu przejściowego.

W rozprawie przedstawiono sporo bardzo wartościowych i oryginalnych wyników badań teoretycznych co potwierdza ranga czasopism naukowych, w których zostały opublikowane rezultaty badań. Do moim zdaniem najważniejszych zaliczyłbym:

- Szczegółowy opis skomplikowanego mechanizmu zrywania wiązania peptydowego katalizowanego przez asparaginianową proteazę wirusa HIV-1, a w szczególności wyeksponowanie roli pola elektrostatycznego w centrum aktywnym enzymu oraz stwierdzenie niewielkiego wpływu kwantowych efektów tunelowania.

- Włączenie do badań specyficznych oddziaływań inhibitorów z odwrotną transkryptazą nie tylko inhibitorów należących do leków z listy FDA ale również rozszerzenie badań na nowe inhibitory oparte na pochodnych triazolowych. Nowatorskim podejściem było określenie swobodnych energii wiązań za pomocą metody perturbacyjnej FEP a także określenie izotopowych efektów wiązań (BIEs).
- Dokonanie szczegółowej analizy oddziaływań integraza-DNA, co pozwoliło Doktorantce na zaproponowanie trzech mechanizmów reakcji zrywania wiązania fosfodiestrowego pomiędzy nukleotydami w centrum aktywnym integrazy.

Podsumowując swoją opinię o pracy chciałbym wyraźnie stwierdzić, że bardzo wysoko oceniam poziom naukowy rozprawy doktorskiej. Rozprawa zawiera nowe i oryginalne badania naukowe. Stosowane w rozprawie procedury obliczeniowe wskazują, że Doktorantka bardzo dobrze opanowała współczesne metody teoretycznego modelowania molekularnego.

Na wyraźnie podkreślenie zasługuje przejrzysta forma rozprawy doktorskiej i w zasadzie bezbłędna. Jednakże na str. 84 opuszczono symbole jednostek długości wiązań wodorowych uzyskanych w wyniku symulacji metodą dynamiki molekularnej. Szkoda, że oprócz kopii prac opublikowanych Doktorantka nie zamieściła suplementów tych publikacji, co jest uzupełnieniem wyników przedstawionych w publikacjach.

Prosiłbym Doktorantkę na odpowiedź w czasie obrony na następujące pytania ponieważ w trakcie czytania rozprawy nie znalazłem odpowiedzi:

- W obliczeniach na ogół był używany promień odcięcia w zakresie 14,5 – 16 Å. Czy wybór takich wartości był wynikiem wcześniej przeprowadzanych obliczeń testowych czy też był rezultatem innych przesłanek?
- W obliczeniach w zasadzie były używane następujące trzy funkcjonały wymiennokorelacyjne DFT: M06-2X, B3LYP i MPW1PW91. Czy wybór tych funkcjonałów spośród olbrzymiej ilości funkcjonałów opisanych w literaturze był również podyktowany odpowiednimi względami?

Przechodząc do końcowej oceny recenzowanej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że stanowi ona bardzo wartościowy wkład do badań związanych aktywnością enzymów wirusa

HIV-1 a uzyskane rezultaty mogą być także przydatne przy projektowaniu nowych środków farmakologicznych.

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 inż. Agnieszki Krzemińskiej-Kowalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Zdzisław Latajka