



Warszawa, dnia 5.10.2015

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgr Son Tung Ngo zatytułowanej: „Interaction between small molecules and amyloid beta peptides: Implications for Alzheimer’s disease” (Oddziaływania pomiędzy małymi cząsteczkami a amyloidowym beta peptydem: wpływ na chorobę Alzheimera)

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana pod kierunkiem Profesora Mai Suan Li w Instytucie Fizyki Polskiej Akademii Nauk. Promotor rozprawy jest doświadczonym badaczem, prowadzącym zaawansowane prace z zakresu fizyki teoretycznej i biofizyki. W ostatnich latach badania zespołu profesora Li zogniskowane były na ważnych problemach biologii strukturalnej, ze szczególnym uwzględnieniem molekularnego opisu mechanizmów tworzenia się agregatów białkowych i ich wpływu na procesy biologiczne prowadzące do tak zwanych chorób „konformacyjnych” (choroba Alzheimera i inne). Rozprawa doktorska mgr Son Tung Ngo jest ściśle wpisana w tą tematykę badawczą. W związku z tym, doktorant miał doskonałe warunki do wzięcia udziału w bardzo ciekawych badaniach naukowych, o dużym znaczeniu poznawczym i praktycznym.

Tekst rozprawy, włącznie z ilustracjami, spisem cytowanej literatury, etc., zawiera się na 132 stronach maszynopisu. Rozprawa napisana jest w języku angielskim. Wydaje mi się, aczkolwiek nie jestem tu ekspertem, że język rozprawy jest poprawny z niebyt licznymi i drobnymi błędami. Zauważyłem jednak sporo niezręcznych sformułowań, które są raczej zabawne niż utrudniające zrozumienie tekstu. Oto parę przykładów takich niezręczności. Strona 58: “we performed 8 independent trajectories”, strona 66: „In this chapter we have collected 342 compounds...”, strona 67: „The information of MD simulation .. is provided in Chapter 3.”, strona 88: “In this chapter, we studied the effects...” i wiele podobnych nietypowych kombinacji składniowo-pojęciowych. Ilustracje są dobrze dobrane i większość z nich jest bardzo dobrej jakości, aczkolwiek niektóre z nich, jak na przykład Figure 5.9 na stronie 65 są zbyt małej rozdzielczości, uniemożliwiającej odczytanie symboli tekstowych, ważnych dla interpretacji rysunku. Mam jeszcze jedną drobną uwagę krytyczną do tekstu rozprawy. Autor opisując ciekawe badania doświadczalne i teoretyczne (modelowanie molekularne) nie precyzuje dokładnie, jaki jest jego udział w tych pracach. Z innego źródła dowiedziałem się, że doktorant wykonał wszystkie prace obliczeniowe i interpretację wyników, korzystając z wyników doświadczeń uzyskanych przez współpracowników. Nie ulega dla mnie wątpliwości, że wkład doktoranta w całe badania był bardzo znaczący, brakowało mi tylko jasnego sprecyzowania tego wkładu w tekście rozprawy.

Układ treści rozprawy nie odbiega od powszechnie stosowanych w naukach ścisłych. We wstępie („**Introduction**”) omówiono cele rozprawy, poznawcze i praktyczne, oraz sposoby ich rozwiązania, ze szczególnym podkreśleniem roli modelowania molekularnego w badaniach mechanizmów tworzenia się kompleksów amyloidowych i ich

powiązaniu z groźnymi procesami chorobowymi, oraz wspieranego modelowaniem molekularnym nowych strategii poszukiwania skutecznych leków. Na końcu tej części umieszczony jest spis publikacji doktoranta. Jako publikacje prezentowane w rozprawie wymieniono 5 tytułów. Trzy z nich to prace w dobrych periodykach, z których tekstami z przyjemnością się zapoznałem. Czwarty artykuł z wymienianych w tym spisie określony jest jako wysłany do druku, a piąty jako przygotowywany do publikacji. Teksty te nie są dołączone do rozprawy i nie miałem okazji zapoznać się z nimi. Brak tych tekstów, a jednocześnie odwołanie się do nich, jest pewną niezręcznością. W tym miejscu umieszczony jest także spis innych publikacji doktoranta. Wymienione publikacje doktoranta były już cytowane ponad 80 razy przez innych badaczy. Ponieważ wszystkie te publikacje ukazały się w ostatnich paru latach, taka liczba cytowań świadczy o tym, że są to prace interesujące i dobrze oceniane przez środowisko naukowe.

Dwa następne rozdziały, zatytułowane „**Review of the Literature**” i „**Computational approaches and analysis methods**” są rodzajem, bardzo krótkiego, wstępu teoretycznego do rozprawy. Pierwszy rozdział tego wstępu w bardzo zwięzły sposób, ale z niezłe dobranymi odnośnikami literaturowymi, omawia podstawowe problemy badawcze odnoszące się do tematu rozprawy. Pokrótce przedstawiono uznawane obecnie hipotezy badawcze, dotyczące molekularnego obrazu choroby Alzheimera i paru innych schorzeń, tzw. chorób konformacyjnych, które mogą być z nią powiązane. Trochę dokładniej, ale też w dość pobieżny sposób przedstawiono obecnie przyjęty obraz tworzenia się złożeń amyloidowych i ich roli w procesach chorobowych. Ostatnie podrozdziały przeglądu literaturowego („Review of the Literature”) są bardziej szczegółowe, co jest ważne, gdyż ściśle dotyczy to badań doktoranta. Omówiono sposoby leczenia choroby Alzheimera, testowane obecnie leki, badania doświadczalne procesów tworzenia się kompleksów amyloidowych oraz doświadczalne i teoretyczne badania mechanizmów wiązania różnych molekuł (potencjalnych leków) do amyloidów i ich wpływu na proces ich dalszego wzrostu, co ma zasadnicze znaczenie dla tak zwanej hipotezy kaskady amyloidowej. Ta hipoteza, w ostatnich paru latach mocno wsparta zarówno badaniami doświadczalnymi jak i też pracami teoretycznymi, jest podstawowym założeniem przyjętym w rozprawie.

Metody dokowania molekularnego były wykorzystane na wszystkich etapach pracy doktorskiej. Opis tych metod w tekście rozprawy wydaje mi się zbyt ogólnikowy. Zabrakło krytycznej oceny zakresu stosowalności powszechnie używanych metod i wskazania/omówienia głównych wyzwań i kierunków rozwoju tej dziedziny biologii cząsteczkowej.

Cztery kolejne rozdziały rozprawy, zatytułowane „**Curcumin binds to A β ₁₋₄₀ peptides and fibrils stronger than Ibuprofen and Naproxen**” (rozdział 4), „**Anti-arrhythmic modification Propafenone is potential drug for Alzheimer’s disease by inhibiting aggregation of amyloid beta peptide: in silico and in vitro studies**” (rozdział 5), „**Top-leads from natural products for treatment of Alzheimer’s disease: docking and Molecular Dynamics study**” (rozdział 6) oraz „**In silico and in vitro characterization of anti-amyloidegenic activity of vitamin K3 analogues for Alzheimer’s disease**” (rozdział 7) opisują teoretyczne badania doktoranta, badania oparte na zaawansowanych metodach modelowania molekularnego, dobrze połączonych z pracami doświadczalnymi. Tytuły tych rozdziałów bardzo dobrze definiują poszczególne zadania badawcze składające się na prace doktorska mgr Son Tung Ngo.

Wyniki pracy doktorskiej są podsumowane, moim zdaniem nieco zbyt zdawkowo, w krótkim rozdziale zatytułowanym „**Conclusions**”. Na końcu rozprawy umieszczono

definicje używanych symboli oraz listę cytowanych pozycji literaturowych. Ten spis zawiera 274 pozycje. Cytowana literatura jest więc obszerna i moim zdaniem bardzo dobrze dobrana.

Główne wyniki pracy doktorskiej

W rozdziale 4 rozprawy opisano wyniki badań kompleksów peptydu A β ₁₋₄₀ i tworzonych przez niego włókien z dużymi molekułami aromatycznymi, kurkumina, ibuprofenem i naproksenem. Opierając się na krystalograficznych i otrzymanych za pomocą NMR strukturach peptydu i jego kompleksów przeprowadzono symulacje dokowania testowanych molekuł (ligandów) i obliczono odpowiednie energie wiązania. Starannie przeanalizowano wyznaczone struktury i opisano oddziaływania odpowiedzialne za ich powstawanie. Pokazano, że zarówno molekuły obu powszechnie stosowanych leków (ibuprofenu i naproksenu) jak i kurkuminy (używanej jako przyprawa w wielu kuchniach świata) w podobny sposób wpływają na kolejne etapy tworzenia się włókien amyloidowych. Może to mieć duże znaczenie dla terapii przeciwko chorobom „konformacyjnym”. Ciekawe, czy tam gdzie jest popularna ostro przyprawiona kuchnia azjatycka maleje liczba cierpiących na chorobę Alzheimera?

Bardzo ciekawy jest wynik opisany w rozdziale 5. Ponieważ wcześniej pokazano, że kurkumina blokuje agregacje A β peptydów, autor przeanalizował wszystkie stosowane obecnie leki przeciwko arytmii, wybierając do dalszych badań te, których molekuły są podobne strukturalnie do kurkuminy, dla której już pokazano jej wpływ na powstawanie złożeń amyloidowych. Dla tych wybranych związków przeprowadzono symulacje dokowania i wyznaczania energii wiązania. Zidentyfikowano lek przeciwko arytmii wykazujący podobny schemat wiązania do amyloidu, jaki obserwowano dla kurkuminy. Okazało się, że jest nim dość popularny lek, Propafenon. Podobne badania oparte na modelowaniu molekularnym i pomiarach doświadczalnych przeprowadzono dla szeregu analogów witaminy K3 (rozdział 7 rozprawy).

Bardzo ciekawe podejście do wspieranego komputerowo projektowania nowych leków wykorzystał doktorant w badaniach opisanych w rozdziale 6 swojej rozprawy. Jako potencjalne leki możliwe do zastosowania w terapii przeciwko chorobie Alzheimera wybrano duży zbiór 342 związków chemicznych uzyskanych z ziół rosnących w Wietnamie. Stosując klasyczne metody dokowania molekularnego zbadano wiązanie się tych związków chemicznych do kilku peptydów A β , których struktury w różnych stadiach asocjacji były wcześniej wyznaczone doświadczalnie, bądź obliczone teoretycznie. Co więcej, wykorzystano doświadczalne badania warunków wchłaniania się tych potencjalnych leków do ludzkiego organizmu, włącznie z tym jak przedostają się one przez barierę krew-mózg. To fascynujące badania, aczkolwiek nie mogę ocenić ich strony doświadczalnej. Nie mniej wyniki prac doktoranta pokazują nowatorskie podejście do wspieranego komputerowo projektowania nowych leków (computer-aided drug design), wydają się też rysować bardzo ciekawe możliwości terapeutyczne, aczkolwiek wymaga to wielu dodatkowych badań. Część obliczeniowa rozprawy wykonana jest profesjonalnie i dobrze opisana. Warto też zauważyć, że istotna część badań prezentowanych w rozprawie była też opisana w artykułach opublikowanych w renomowanych czasopismach, gdzie były poddane ocenie przynajmniej paru ekspertów.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że pomimo wspomnianych wcześniej drobnych usterek językowych w tekście rozprawy i dość pobieżnego wstępu teoretycznego, z przyjemnością zapoznałem się z jej treścią i prezentowanymi w tej rozprawie (i w publikacjach naukowych w wysokiej rangi czasopismach) badaniami magistra Son Tung Ngo. Według mojej oceny rozprawa spełnia wszystkie wymagane warunki stawiane pracom

doktorskim. Omówiony w rozprawie dorobek naukowy doktoranta oceniam wysoko. Wyniki prezentowane w rozprawie są ważne, ciekawe i mogą mieć duże znaczenie dla wielu celów badawczych biologii molekularnej i medycyny. Nie mam też wątpliwości, że doktorant, autor recenzowanej rozprawy i dziewięciu publikacji w periodykach naukowych, które były już cytowane ponad osiemdziesiąt razy, jest doskonale przygotowany do dalszej pracy badawczej. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Instytutu Fizyki Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie pana magistra Son Tung Ngo do kolejnych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę wysoki merytoryczny poziom rozprawy i doskonałe wyniki badawcze opublikowane w renomowanych czasopismach, chciałbym także wystąpić o możliwość nagrodzenia tej pracy stosownym wyróżnieniem.



Prof. dr hab. Andrzej Koliński