

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Man Hoang Vieta

pt. „ Numerical study of protein-ligand binding: implications for Alzheimer's disease and influenza virus”

dla Rady Naukowej Instytutu Fizyki PAN.

Poza oczywistą chęcią zrozumienia molekularnych podstaw funkcjonowania żywych komórek, badanie procesów oddziaływania białek z ligandami stosuje się często do poszukiwania leków. Rozprawa doktorska mgr Man Hoang Vieta opisuje teoretyczne badania oddziaływań różnych ligandów z białkami związanymi z chorobą Alzheimera i grypą.

Doktorant postawił sobie niezwykle ambitne zadanie – choroba Alzheimera jest schorzeniem niezwykle trudnym do zrozumienia, diagnostyki i ewentualnej farmakoterapii. Jak każda choroba związana z niekontrolowaną agregacją białek, opiera się ona skutecznie metodom biologii strukturalnej, a doświadczenia biochemiczne przeprowadzane są na fragmentach białek. Ze względu na coraz częstsze występowanie tej choroby w starzejących się społeczeństwach, trudność w zaakceptowaniu jej skutków oraz znaczenie społeczne i ekonomiczne, liczba laboratoriów, badaczy i (często sprzecznych) publikacji stale wzrasta. Spośród bardzo wielu możliwych do teoretycznego zbadania problemów doktorant wybrał symulacje oddziaływań krótkich peptydów z peptydami A β różnej długości oraz oddziaływania peptydów A β pomiędzy sobą.

Autor przeprowadza symulacje dynamiki molekularnej, aby zbadać wpływ dwu pentapeptydów: LPFFD i KLVFF, dla których uprzednio pokazano eksperymentalnie antyagregacyjny wpływ na peptydy A β , na agregację krótkiego fragmentu A β ₁₆₋₂₂. Symulacje te, przeprowadzone w czasach rzędu setek nanosekund, z *explicite* uwzględnionymi cząsteczkami rozpuszczalnika, pokazały, że LPFFD spowalnia proces agregacji bardziej niż KLVFF. Wynik ten potwierdził doktorant dokując oba peptydy do A β ₁₋₄₀ i obliczając energię wiązania używając formalizmu MM-PBSA – LPFFD wiąże się o 0.8 kcal/mol silniej niż KLVFF.

Co ciekawe, pierwszy z peptydów hamuje agregację pomimo zwiększenia całkowitej zawartości struktury β w peptydzie 1-40, ale zwiększenie to następuje poza rejonem odpowiedzialnym za agregację.

Kolejna część pracy poświęcona jest oddziaływaniu peptydów $A\beta$ różnej długości pomiędzy sobą. Doktorant, ponownie używając metod dynamiki molekularnej i analizy MM-PBSA, bada oddziaływanie peptydów $A\beta_{40}$ i $A\beta_{42}$ ze sobą oraz mieszanej pary $A\beta_{40}$ $A\beta_{42}$. Jest to o tyle interesujące, że zarówno badania *in vivo*, jak i *in vitro* pokazują, że agregacja peptydu $A\beta_{42}$ jest hamowana przez obecność $A\beta_{40}$. Wyniki przeprowadzonych przez Man Hoang Vieta symulacji pokazują, że zawartość struktury β w peptydzie $A\beta_{42}$ jest mniejsza w obecności $A\beta_{40}$, co powinno powodować zahamowanie agregacji. Dowody na inhibicję tego procesu są pośrednie – dla pokazania widocznego efektu należałoby przeprowadzić symulacje z peptydami występującymi w stosunku 10:1, co jest obecnie niemożliwe ze względu na potrzebne moce obliczeniowe / czas symulacji.

Temat oddziaływań fragmentów $A\beta$ z peptydami kończą obliczenia energii oddziaływania $A\beta_{9-40}$ i $A\beta_{17-42}$ ze wszystkimi 8 tysiącami możliwych trójpeptydów. Analizując wyniki dokowania trójpeptydów z pomocą Auto Dock z użyciem MM-PBSA doktorant pokazuje, że siła oddziaływania koreluje z liczbą reszt aromatycznych, masą, itp., wskazując na peptydy WWW, WWP i WPW jako te, które powinny najlepiej hamować agregację fragmentów $A\beta$.

Ponieważ peptydy te mogą pokonywać barierę krew-mózg, zdaniem doktoranta stanowią dobre substancje wyjściowe do dalszych badań.

W ostatniej części rozprawy doktorant pokazuje zastosowanie sterowanej dynamiki molekularnej (w której bada siłę potrzebną do wyciągnięcia liganda z kieszeni wiążącej białka) do oszacowania energii wiązania cząsteczek (z bazy NSC) do neuraminidazy wirusa grypy A/H1N1.

Dodatkowo bada autor znane inhibitory tego białka takie jak tamiflu czy relenza pokazując, że wyniki uzyskane z SMD są zgodne z doświadczalnymi. Jednocześnie doktorant wykazuje, że wiele cząsteczek z bazy NSC zachowuje się w jego symulacjach lepiej (tj. są trudniej usuwalne) niż znane inhibitory, używane jako leki.

Rozprawa doktorska Man Hoang Vieta napisana jest w języku angielskim i posiada typowy układ treści. We wstępie doktorant omawia zarówno używane metody, jak i badane układy, a następnie opisuje po kolei uzyskane rezultaty. Należy podkreślić, że rozprawa przygotowana jest niezwykle starannie.

Doktorant nieważ wprowadzić kłopoty z językiem angielskim, ale nie wpływa to na rozumienie rozprawy. Wszystkie wyniki są bardzo drobiazgowo przedyskutowane w świetle najnowszych danych (279 pozycji cytowanej literatury).

W podsumowaniu, doktorant kompetentnie użył kilku narzędzi symulacji i modelowania do bardzo ciekawych układów, uzyskując wyniki niejednokrotnie wartę eksperymentalnego przetestowania. Opisane w rozprawie badania zostały częściowo opublikowane w czterech artykułach umieszczonych w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. W trzech z nich jest doktorant pierwszym autorem.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska Man Hoang Vieta spełnia wszystkie zwyczajowe i formalne kryteria i stawiam wniosek o dopuszczenie doktoranta do dalszych etapów przewodu.

Andrzej Zieliński

I have the following queries to be addressed by the candidate during public defense:

1. In the dissertation, there is twice repeated statement „... for the first time, we have theoretically demonstrated that the binding affinity is correlated with inhibition capability”. I thought this correlation is obvious. Please comment.
2. Is there any IP protection (patents?) on yours results?
3. The calculation of solvation free energies in MM-PBSA method (page 29) will depend on the van der Waals radii used to calculate solvent accessible surface area (SASA). Here, the GROMOS radii are used and GROMOS force field is not represented among force fields for which parameters are calculated in the reference cited[128] as the source of parameters of the linear dependence of ΔG on SASA. Are the values of $\gamma = 0.0072$ kcal/mol \AA^2 and $\beta = 0$ correct in this context?

L