

Recenzja
pracy doktorskiej mgr Grzegorza Nawrockiego
pt.: „Oddziaływania biomolekuł z powierzchniami ciał stałych w symulacjach
dynamiki molekularnej”

Praca doktorska mgr Grzegorza Nawrockiego poświęcona jest zagadnieniom adsorpcji biocząsteczek na powierzchni ciał stałych mających zastosowania w diagnostyce medycznej i terapiach opartych na nanomateriałach. Doktorant badał proces adsorpcji na poziomie molekularnym używając metod modelowania komputerowego z rozdzielczością atomową i robił to bardzo systematycznie i metodycznie. Badane ciała stałe były kryształami wybranych związków chemicznych (ZnO, ZnS), celulozy oraz złota, a biocząsteczkami były mono-, di- i oligopeptydy, analogi łańcuchów bocznych peptydów, białko oraz woda. Najpierw określony został wpływ powierzchni kryształu na strukturę wody, następnie oddziaływania w układzie ciało stałe-woda-peptyd z uzupełnieniem na di- i oligopeptydy oraz analogi łańcuchów bocznych, a na końcu oddziaływanie ciało stałe-woda-białko. W przypadku ZnO, badania przeprowadzono dla czterech różnych powierzchni łupliwości (dwóch polarnych i dwóch niepolarnych), a w przypadku złota dla powierzchni „zanieczyszczonej”, hydrofobowej (sparametryzowanej polem siłowym FFB) i dwóch powierzchni „czystych”, hydrofilowych, jednak różnie sparametryzowanych (polami FFV i FFI). Hydrofobowość i hydrofilowość powierzchni kryształu złota zostały potwierdzone przez doktoranta metodą wyznaczania kąta zwilżania dla kropli wody umieszczonej na tej powierzchni.

Praca doktorska mgr Grzegorza Nawrockiego ma typowy dla prac doktorskich układ, tj. Wprowadzenie, Metody, Wyniki i Podsumowanie. Posiada jasno sprecyzowany cel badawczy, a wybór obiektów oraz kolejności przeprowadzanych badań są dobrze umotywowane. Jest też spis treści, rysunków, tabel, skrótów i symboli. Praca jest bardzo starannie wykonana i zwięzła, ale szczegółowo opisana na 75 stronach; cytowanych jest 110 dobrze dobranych pozycji literaturowych. O wysokiej jakości rozprawy doktorskiej świadczy fakt, że jest oparta na czterech artykułach doktoranta, z których trzy są już opublikowane w bardzo dobrych czasopismach fizyko-chemicznych (sumaryczny IF czasopism wynosi 12.5), a jeden jest w przygotowaniu do druku. Wszystkie te artykuły są dwu-autorskie (doktoranta i promotora) – prace opublikowane są dołączone do rozprawy.

Praca doktorska mgr Grzegorza Nawrockiego wpisuje się w nurt zagadnień badanych metodami obliczeniowymi w grupie prof. Marka Cieplaka, dotyczących oddziaływań białek z powierzchniami stałymi. Te zagadnienia są ważne z punktu widzenia biofizycznych badań podstawowych, ale przede wszystkim przy opracowywaniu nowych biofunkcyjnych materiałów, które mają szerokie zastosowania praktyczne. Tematyka podjęta przez doktoranta jest więc istotna i na czasie.

Problem pierwszej części rozprawy dotyczący wpływu powierzchni ciała stałego na wodę, jest generalnie ważny oraz kluczowy dla dalszych jej części. Ten problem jest od wielu lat intensywnie badany, ale całościowych badań z użyciem pełnoatomowej symulacji dynamiki molekularnej, jak ma to miejsce w tej pracy doktorskiej, nie jest wiele. Badane powierzchnie różniły się obecnością i wartościami ładunków elektrostatycznych na powierzchni (największe, $\sim \pm 1e$ występowały na powierzchniach ZnO, mniejsze, $\sim \pm 0.5e$ na powierzchni ZnS, na dwóch powierzchniach Au (FFB i FFV) ładunki nie występowały, a na trzeciej (FFI), atomy Au miały przypisane ruchome dipole); różniły się także wartościami parametrów Lennarda Jonesa. Różne powierzchnie wpływały więc różnie na strukturę wody w ich najbliższym sąsiedztwie. Wykazano, że zasięg wpływu na gęstość wody ograniczony jest do dwóch pierwszych warstw, każda o szerokości zbliżonej do rozmiarów cząsteczki wody. Z kolei, wpływ na orientację cząsteczek wody ograniczony był do pierwszej warstwy wody. Powierzchnia celulozy, w odróżnieniu od pozostałych powierzchni, w czasie symulacji dynamiki molekularnej podlegała dynamice. Ta powierzchnia wpływała na gęstość wody w dwóch pierwszych warstwach, ale nie na orientację dipoli cząsteczek wody.

Oddziaływania wody z powierzchniami ciał stałych mają duży, lub raczej zasadniczy wpływ na adsorpcję biocząsteczek do tych powierzchni. Temu zagadnieniu poświęcona jest druga część pracy. Do wyznaczenia energii wiązania mono- i dipeptydów do badanych powierzchni w obecności wody zastosowano metodę *umbrella sampling*. Obliczenia przeprowadzono dla 20 reszt aminokwasowych oraz kilku dipeptydów. Dla porównania, dla jednej z powierzchni ZnO, przeprowadzono analogiczne obliczenia dla mono-peptydów w próżni. Średnia energia wiązania aminokwasów w obecności wody jest ponad dwa rzędy wielkości mniejsza niż w próżni, jednakże, w wodzie widoczna jest duża różnica w wiązaniu poszczególnych reszt aminokwasowych, podczas gdy w próżni procentowe różnice w energiach są małe. Energie wiązania dla poszczególnych aminokwasów zależą od powierzchni, do jakiej adsorbują. Wiązanie aminokwasów do powierzchni ZnO nie jest bezpośrednie, ale poprzez cząsteczki wody, przez co jest słabe – najmniejszy wpływ wody jest wtedy, gdy atomy wodoru wody są skierowane do powierzchni. Wiązanie aminokwasów do powierzchni ZnS jest bezpośrednie, ale niezbyt mocne. Również adsorpcja aminokwasów

do powierzchni złota i celulozy jest bezpośrednia i jest mocniejsza niż w przypadku powierzchni ZnO i ZnS, ale silnie zależy od reszty aminokwasowej, a w przypadku złota, również od typu powierzchni.

Badania wiązania niewielkiego białka z powierzchnią prowadzono metodą symulacji dynamiki molekularnej. O efektywności wiązania świadczył czas przebywania choć jednego atomu białka w odległości mniejszej niż 0.5 nm od powierzchni. Wiązanie z powierzchnią mogło być bezpośrednie lub poprzez cząsteczki wody. Bardzo ciekawym wynikiem jest wykazanie, że w oparciu o informacje o wiązaniu reszt aminokwasowych do powierzchni nie można przewidzieć szczegółów wiązania białka z tą powierzchnią. Wynika to ze stwierdzonego w tej pracy braku addytywności energii wiązania. Energia wiązania di- i oligopeptydów przez powierzchnię nie jest sumą energii otrzymanych dla pojedynczych aminokwasów wchodzących w skład di- i oligopeptydów.

Oprócz obliczeń, których wyniki są podsumowane powyżej, doktorant przeprowadził szereg innych niezbędnych obliczeń np. potencjału elektrostatycznego nad powierzchnią ZnO, co pomogło m. in. w wyborze liczby warstw komórek elementarnych kryształu ZnO w budowanym układzie symulacyjnym; lub kąta zwilżania dwóch powierzchni złota, by wykazać czy są hydrofobowe, czy hydrofilowe. Doktorant włożył ogromną pracę w przeprowadzenie obliczeń, analizy wyników i ich opracowanie. Na pochwałę zasługuje oprawa graficzna pracy, ilustrująca zarówno badane układy jak i omawiane wyniki. Podsumowując, praca jest bardzo starannie wykonana i szczegółowo opisana.

Praca doktorska mgr Grzegorza Nawrockiego wyjaśnia oddziaływania i procesy zachodzące w złożonych układach na poziomie molekularnym z rozdzielczością atomową. Badania przeprowadzone przez doktoranta są z pogranicza fizyko-chemii i biofizyki i są badaniami podstawowymi, których wyniki mogą być zastosowane w badaniach aplikacyjnych.

W pracy zauważyłam tylko kilka pomyłek, czy niedociągnięć:

1. W sekcji 3.3.1 nie ma wykresów potencjału średniej siły, z których wyznaczana jest energia wiązania peptydów do powierzchni ZnO, choć w sekcji 3.3.2 (powierzchnia ZnS) i dalszych są – wskazuje to na pewien brak konsekwencji w prezentacji wyników.
2. Brakuje wyjaśnienia, że skrót PMF używany w tekście i symbole V lub V(z) używane w podpisach rysunków to to samo.
3. W tekście omawiany jest stosunek P_z do P (P_z/P), a osie poziome na Rys. 3.9 i 3.13 opisane są jako P/ P_z .
4. Str. 12, w zdaniu „...takich jak spektroskopia rentgenowska...” raczej chodzi o dyfrakcję niż spektroskopię.

5. Str. 31, w zdaniu: „...ujemnie naładowanych O wody ($\sim 0.8 e$)...” – brakuje „-”.

6. str. 10, w zdaniu „Nie mniej jednak, wyniki dotyczące znacznie prostszych zagadnień w dalszym ciągu pozostają niespójne, a ich przyczyny niewyjaśnione, co jest przedmiotem niniejszej rozprawy”, czegoś brakuje.

7. Doktorant stara się nie powtarzać pewnych słów w zdaniach, co czasem powoduje niepoprawne użycie niektórych z nich, np. (str. 20) „Liczba źródeł potencjału Lennarda Jonesa na powierzchni jest w polu FFI dwukrotnie większa niż ilość atomów Au” – w obu przypadkach powinna być „liczba”, bo i źródła i atomy są policzalne.

Czytając pracę, nasunęło mi się kilka tematów do ewentualnej dyskusji na obronie.

1. Dla mnie dość nieintuicyjne jest nazwanie powierzchni (0001)-O i (000 $\bar{1}$)-Zn kryształu ZnO „polarnymi” jeśli znajdują się na nich atomy jednego typu obdarzone ładunkiem – takie powierzchnie kwalifikują się do tego, by nazwać je „naładowane”. Bardziej intuicyjne byłoby nazwanie pozostałych dwóch powierzchni „polarnymi” zamiast „niepolarnymi”, bo są na nich atomy obdarzone przeciwnymi ładunkami.

2. Mój niepokój budzą histogramy na Rys. 3.9. Jeśli na powierzchni (0001)-O wyeksponowane są ujemnie naładowane atomy tlenu (ładunek $\sim -1.0 e$), z którymi potencjalnie woda może też tworzyć wiązania wodorowe, to dłaczego cząsteczki wody nie są skierowana atomami wodoru w kierunku tych atomów tlenu ($P_z/P = -1$)? Co z kolei ma miejsce w przypadku powierzchni (000 $\bar{1}$)-Zn, na której znajdują się dodatnio naładowane atomy Zn (ładunek $\sim 1.0 e$), z którymi woda zapewne nie tworzy wiązań wodorowych i które raczej powinny odpychać a nie przyciągać dodatnio naładowane atomy wodoru wody. Ze względu na oddziaływania ładunkowe, P_z/P powinno być bliższe wartości +1 niż -0.5. Jak wytłumaczyć ten wynik?

Pomyłki i niedociągnięcia znalezione w pracy są łatwe do poprawienia i nie są związane z jej stroną merytoryczną. Jedyne zarzut merytoryczny przedstawionej mi do oceny rozprawy dotyczy braku dyskusji, a szczególnie podkreślenia istotności i nowości wyników. Pomimo to, pracę doktorską mgr Grzegorza Nawrockiego oceniam bardzo wysoko i stwierdzam, że spełnia wymagania Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym, aby rozprawa doktorska stanowiła oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, wykazywała ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez doktoranta. Wnoszę więc do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Fizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie o dopuszczenie mgr Grzegorza Nawrockiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę też o wyróżnienie pracy doktorskiej i nagrodzenie doktoranta za jego wielkie zaangażowanie w przeprowadzenie badań, wysoki ich poziom oraz szybkie publikowanie wyników.