



INSTYTUT FIZYKI POLSKIEJ AKADEMII NAUK

INSTITUTE OF PHYSICS, POLISH ACADEMY OF SCIENCES

02-668 WARSZAWA, Al. LOTNIKÓW 32/46

fax: (48-22) 843-0926; <http://info.ifpan.edu.pl>

Prof. dr hab. Andrzej L. Sobolewski

tel.: +48 22 116 3210

e-mail: sobola@ifpan.edu.pl

Warszawa, 26 kwietnia 2018

**Ocena dorobku naukowego dr Bartosza Jana Różyckiego w związku z
wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego**

Dr Bartosz Różycki ukończył studia magisterskie na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego w roku 2002, a następnie w roku 2006 uzyskał także stopień doktora nauk fizycznych za rozprawę doktorską zatytułowaną: „*Stochastyczne modele adhezji błon komórkowych poza równowagą termodynamiczną*”. Opiekunem i promotorem na tych stopniach kariery zawodowej dra Różyckiego był prof. dr hab. Marek Napiórkowski.

W czasie studiów doktoranckich mgr Różycki odbył w latach 2003-2005 trzy półroczne praktyki na Wydziale Teorii Instytutu Koloidów i Międzypowierzchni im. Maxa Plancka w Poczdamie, a po uzyskaniu stopnia doktora w latach 2006-2012 przebywał na stażach podoktorskich; dwukrotnie w Instytucie Maxa Plancka w Poczdamie, Niemcy, w latach 2006-2008 i 2011-2012 oraz w Narodowym Instytucie Zdrowia w Bethesda, USA, w latach 2008-2011. Od roku 2012 dr Różycki jest zatrudniony na stanowisku adiunkta w Instytucie Fizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie.

Omówienie i ocena osiągnięcia habilitacyjnego

W skład ocenianego osiągnięcia habilitacyjne dra Różyckiego wchodzi 9 prac opublikowanych na przestrzeni lat 2011-2016 w wiodących międzynarodowych czasopismach naukowych z pogranicza fizyki, chemii i biologii. Wszystkie prace są wielo-autorskie, ale w większości z nich (6 prac) dr Różycki jest pierwszym autorem,

a w 5 pracach jest autorem korespondującym. Z załączonych oświadczeń współautorów oraz habilitanta wynika, że jego wkład w powstanie tych prac był wiodący. Tytuł osiągnięcia naukowego został sformułowany jako: „*Dynamika konformacyjna białek wielodomenowych w ramach modeli gruboziarnistych*”. Autoreferat w języku polskim i angielskim zawarty w dokumentacji habilitacyjnej zawiera streszczenia tych prac i omówienie najważniejszych wyników.

Białka odgrywają zasadniczą rolę we wszystkich procesach biologicznych. Biorą udział w katalizowaniu przemian w układach biologicznych, uczestniczą w transporcie cząsteczek i jonów, służą jako przeciwciała oraz biorą udział w przekazywaniu impulsów nerwowych jako białka receptorowe, a także pełnią funkcję mechaniczno-strukturalną w komórkach. Z chemicznego punktu widzenia białka są stosunkowo prostymi wielkocząsteczkowymi polimerami, złożonymi z liniowo połączonych cząsteczek aminokwasów. Jednakże, po pierwsze, liczba kombinacji 20 rodzajów najczęściej występujących w przyrodzie aminokwasów dla białka o średniej wielkości jest praktycznie nieskończona, a po drugie, sama znajomość sekwencji tworzących łańcuch peptydowy aminokwasów (tzw. struktura pierwszorzędowa białka) nic nie mówi o jego funkcjonalności. Za funkcjonalność białka odpowiedzialna jest jego struktura przestrzenna, którą opisuje się w sposób hierarchiczny; I tak regularne połańdowanie w przestrzeni szkieletu polipeptydowego określa się mianem struktury drugorzędowej, a przestrzenne ułożenie całego polipeptydu, czyli jego kształt, stabilizowany oddziaływaniami bocznych reszt aminokwasowych, wyznacza strukturę trzeciorzędową białka. Co więcej, w przypadku białek oligomerycznych, czyli zbudowanych z dwóch lub więcej polipeptydów, wzajemne ich położenie i oddziaływanie podjednostek (domen), określa się mianem struktury czwartorzędowej. Tego typu białka wielodomenowe, w których odrębne, ustrukturyzowane domeny połączone są nieustrukturyzowanymi odcinkami łańcucha polipeptydowego, są często pozbawione struktury trzeciorzędowej i mimo, że są powszechne i pełnią wiele istotnych funkcji w komórkach biologicznych, są bardzo trudne do zbadania za pomocą konwencjonalnych metod.

W celu charakteryzacji strukturalnej tego typu, dynamicznych kompleksów białkowych, konieczne jest korzystanie z tzw. metod hybrydowych, które łączą zaawansowane techniki obliczeniowe z wynikami badań strukturalnych uzyskanych przy wykorzystaniu danych z wielu różnorodnych, wzajemnie uzupełniających się technik doświadczalnych. Zalicza się do nich rozwijana przez dra Różyckiego metoda zwana EROS (ang. *Ensemble Refinement of SAXS*) łącząca symulacje

komputerowe gruboziarnistego modelu białek wielodomenowych z wynikami doświadczeń SAXS (ang. *small angle Xray scattering*), czyli rozpraszania promieniowania rentgenowskiego pod małymi kątami na białkach w środowisku wodnym, które dostarczają informacji na temat rozmiaru i kształtu całego badanego kompleksu białkowego. Istotą metody EROS jest dopasowanie zespołu konformacyjnego uzyskanego w trakcie symulacji dynamicznych kompleksu białkowego bezpośrednio do danych eksperymentalnych. Metodę tą na przestrzeni lat dr Różycki stopniowo poszerzał i modyfikował, a seria prac składających się na jego osiągnięcie habilitacyjne prezentuje konsekwentnie esencję tego procesu.

Metoda EROS została zaprezentowana przez habilitanta i współpracowników w pracy [H1], gdzie zastosowano ją do zbadania konformacji podjednostki białkowej CHMP3 kompleksu ESCRT-III. Kompleksy białkowe ESCRT (od ang. *endosomal sorting complexes required for transport*) zostały zidentyfikowane w rozmaitych organizmach – od drożdży po człowieka i uczestniczą w transporcie wewnątrzkomórkowym. Podjednostka białkowa CHMP3 stanowi interesujący przykład wpływu otoczenia (stężenie soli, w tym wypadku) na konformację białka wielodomenowego. W zależności od stężenia soli przyjmuje konformację zamkniętą lub otwartą, co wskazuje że ekranowanie oddziaływań elektrostatycznych ma istotny wpływ na rozmieszczenie jego domen. Przeprowadzone w pracy [H1] serie symulacji Monte Carlo w ramach modelu gruboziarnistego Kima i Hummera (KH) dały wyniki jakościowo zgodne z wynikami pomiarów SAXS dla tego białka.

Wyniki uzyskane w pracy [H1] wskazały na możliwość uproszczenia metody EROS polegającego na wyborze najmniejszego możliwie zestawu zbiorów struktur, który daje zgodność teorii z doświadczeniem. Ta wersja metody EROS została zastosowana w pracach [H2, H3] do konstrukcji zespołów konformacyjnych kompleksów białkowych ESCRT-I, ESCRT-II i ESCRT-III. W pracach tych wykorzystano nie tylko symulacje gruboziarniste i doświadczenia rozproszeniowe SAXS, lecz także dodatkowo dwie techniki spektroskopowe - FRET (ang. *Förster resonance energy transfer*) i EPR (ang. *electron paramagnetic resonance*). Wykazano, że minimalny zespół konformacyjny, który poprawnie opisuje wyniki SAXS zawiera od kilku (ESCRT-I) do kilkunastu (ESCRT-III) znacznie różniących się między sobą modeli strukturalnych. Prowadzi to do wniosku, że kompleksy ESCRT przyjmują całe spektrum różnorodnych konformacji, a oddziaływania między ich domenami są słabe i krótkotrwałe.

Zauważone w pracy [H3] intrygujące podobieństwo promienia krzywizny niektórych modeli strukturalnych do promienia krzywizny błony endosomu podczas pączkowania zostało bardziej szczegółowo zbadane w pracy [H4]. Pozwoliło to wyjaśnić dlaczego białka ESCRT-III mogą generować zarówno pączki endosomalne w bardzo szerokim zakresie rozmiarów (od 50 nm do nawet 2 μm) jakie zostały zaobserwowane w doświadczeniach.

Należy podkreślić, że metoda EROS [H1] i jej modyfikacje [H2,H3], wprowadzone i zaimplementowane przez habilitanta w kontekście badań białek ESCRT, stanowią istotny wkład do rozwoju tzw. hybrydowych metod biologii strukturalnej.

Seria prac [H5, H6 i H7] poświęcona jest badaniu własności i funkcji nieustrukturyzowanych łączników międzydomenowych w białkach celulozomalnych. Są to wielobiałkowe enzymy wydzielane przez niektóre mikroorganizmy, które rozkładają polisacharydy tworzące ścianki komórek roślinnych. I tak, w pracy [H5] został szczegółowo zbadany zespół konformacyjny ksylanazy Z, która jest wielodomenowym enzymem i jednocześnie jednym ze składników celulozomu *CipA* bakterii *C. thermocellum*. Badania wykazały, że ksylanaza Z przybiera bardzo zróżnicowane konformacje, co spowodowane jest słabymi oddziaływaniami pomiędzy poszczególnymi jej domenami oraz giętkością nieustrukturyzowanych łączników międzydomenowych. Ma to istotne znaczenie z punktu widzenia funkcji biologicznej pełnionej przez ten enzym, który musi równocześnie tworzyć kontakty z różnymi fragmentami polisacharydów budujących ścianki komórek roślinnych.

W pracy [H6] zbadano konformacje minicelulozomu złożonego z endoglukanazy Cel8A i skafoldyny oznaczonej jako ScafT pochodzących z bakterii *C. ocellumtherm.* Symulacje Monte Carlo kompleksu białkowego Cel8A-ScafT i jego mutantu Cel8A*-ScafT w ramach modelu KH dały wyniki nierozróżnialne w granicach błędów statystycznego, co wyraźnie wskazało na ograniczenia tej metody. Dopiero przeprowadzone symulacje dynamiki molekularnej pozwoliły na uzyskanie poprawnego opisu obserwacji doświadczalnej.

W pracy [H7] metoda EROS z modelem KH została zastosowana do symulacji struktur ok. 25 peptydów wchodzących w skład nieustrukturyzowanych łączników międzydomenowych w celulozomach kilku

organizmów. Porównanie uzyskanych wyników z wynikami symulacji dynamiki molekularnej pełnoatomowych modeli peptydów złożonych z kilku do kilkunastu aminokwasów w pełni potwierdziło stosowalność tej metody do modelowania struktur krótkich łańcuchów peptydowych. W pracy tej dodatkowo został przetestowany model typu Go zaproponowany przez Cieplaka i współpracowników, który to w przeciwieństwie do modelu KH uwzględnia dynamikę domen białkowych. Symulacje dynamiki molekularnej minicelulozomu Cel8A-ScafT przeprowadzone w ramach nieco zmodyfikowanego modelu Go wykazały, że nieustrukturyzowane odcinki łańcucha polipeptydowego pomiędzy domenami wywierają istotny wpływ na konformację łączonych domen, a skalę tego efektu determinuje sztywność łączników międzydomenowych.

Wyniki prac [H5-H7] stanowią istotny wkład do zrozumienia własności fizycznych i funkcji biologicznych nieustrukturyzowanych łączników międzydomenowych w celulozomach.

Prace [H8, H9] poświęcone zostały badaniu stabilności mechanicznej i termicznej adhezyjnych białek wielodomenowych. Domeny transbłonowe tych białek wbudowane są w błonę komórkową i aby spełniały swoje funkcje biologiczne, ich poszczególne domeny muszą wykazywać odpowiednią stabilność mechaniczną i termiczną. I tak, w pracy [H8] zbadano, przy wykorzystaniu metod dynamiki molekularnej w ramach gruboziarnistego modelu typu Go, reakcję międzykomórkowej części kompleksu białkowego CD48-2B4 na rozciąganie mikroskopem sił atomowych ze stałą prędkością. Wykazano, że dysocjacja kompleksu białkowego CD48-2B4 jest procesem złożonym, który zależy od wielu czynników, takich jak: kierunek przyłożonych sił, czy konkurencja rozwijania się poszczególnych białek. Natomiast własności termodynamiczne i kinetyczne enzymu syntazy cytrynianowej z różnych organizmów (ciepłolubnych, mezofilnych i zimnolubnych) zbadano w pracy [H9] przy pomocy metod dynamiki molekularnej w ramach zmodyfikowanego gruboziarnistego modelu typu Go. Pomimo tego, że struktury natywne syntazy cytrynianowej z różnych organizmów są niemal identyczne, model gruboziarnisty typu Go rozróżnia własności tych białek zgodnie z obserwacjami doświadczanymi, czyli że białka z organizmów ciepłolubnych wykazują w tym modelu większą stabilność termiczną od ich homologów z organizmów

mezofilnych i zimnolubnych.

Podsumowując, należy podkreślić, że zaprezentowany jako osiągnięcie habilitacyjne cykl prac stanowi realizację dobrze zdefiniowanego i spójnego projektu badawczego, który stanowi istotny wkład do rozwoju metod hybrydowych biologii strukturalnej. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt wykorzystania całego spektrum metod obliczeniowych, które mają swoje podstawy w fizyce statystycznej, a mianowicie metod dynamiki molekularnej (zarówno w ramach modeli gruboziarnistych typu Go [H6-H9] jak i modeli pełnoatomowych [H6,H7]), metod Monte Carlo [H1-H7] (w tym także symulacji Monte Carlo z wymianą replik [H1,H2,H3,H5,H6]), metody entropii maksymalnej [H1] oraz klasteryzacji [H1-H3]. Ponadto w pracach [H1,H2,H3,H5] wykorzystano teorię rozpraszania promieniowania rentgenowskiego, a w pracy [H4] zastosowano teorię przejść fazowych w płynach klasycznych oraz teorię elastyczności błon. Konieczność zastosowania różnorodnych metod obliczeniowych oraz teorii fizycznych wynika ze złożoności badanych problemów związanych z dynamiką konformacyjną białek wielodomenowych.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Na pozostały dorobek naukowy dra Różyckiego przed uzyskaniem przez niego stopnia doktorskiego składa się 6 prac, a 18 prac zostało opublikowanych po uzyskaniu tego stopnia. Prace te zostały opublikowane w dobrych i bardzo dobrych czasopismach międzynarodowych. W swoim autoreferacie habilitant zwięźle charakteryzuje podejmowaną w tych pracach tematykę i uzyskane wyniki oraz szczegółowo opisuje swój wkład w powstanie tych prac. Poza tym dr Różycki jest współautorem przeglądowego rozdziału w książce oraz autorem dwóch artykułów popularnonaukowych w języku polskim.

Wszystkie opublikowane prace współautorstwa habilitanta dotyczą tematyki zapoczątkowanej w jego rozprawie doktorskiej i stanowiącej podstawę jego osiągnięcia habilitacyjnego. Z załączonej analizy bibliometrycznej wynika, że wg bazy Web of Science z początku tego roku prace te były cytowane ponad 800 razy, a jego wskaźnik Hirscha wynosił 16. Habilitant wygłosił cztery wykłady zaproszone na konferencjach międzynarodowych i dwa na międzynarodowych sympozjach oraz miał 14 prezentacji ustnych i plakatowych na zjazdach i konferencjach międzynarodowych.

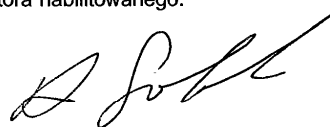
Ocena innej działalności naukowej

Dr Różycki posiada doświadczenie w pozyskiwaniu środków na badania naukowe i w kierowaniu projektami badawczymi. Był kierownikiem dwóch projektów badawczych NCN Opus oraz projektu Juventus Plus MNiSW. Za swoją działalność naukową został uhonorowany w latach 2013-2016 stypendium MNiSW dla Młodych Wybitnych Naukowców oraz uzyskał Międzynarodowe Stypendium Wyjazdowe im. Marii Skłodowskiej-Curie w ramach 7-go Programu Ramowego Wspólnoty Europejskiej (2009-2012). Dr Różycki jest autorem kilkudziesięciu recenzji wykonanych dla czasopism z listy JCR oraz ocenił kilkanaście wniosków NCN jako ekspert w panelu Nauk o Życiu.

Główny dorobek dydaktyczny dra Różyckiego pochodzi z lat 2002-2005 gdy jako asystent na Wydziale Fizyki UW prowadził ćwiczenia do wykładów z fizyki i matematyki. Obecnie współprowadzi wykłady w Międzynarodowym Studium Doktoranckim Instytutu Fizyki PAN. Dr Różycki posiada również pewien dorobek w zakresie popularyzacji nauki.

Podsumowanie

Podsumowując uważam, że zarówno osiągnięcia naukowe przedstawione jako podstawa habilitacji dra Bartosza Różyckiego jak i jego pozostałe dokonania naukowe i dydaktyczne wypełniają ustawowe i zwyczajowe wymagania dotyczące habilitacji i w pełni uzasadniają nadanie mu stopnia doktora habilitowanego.



Andrzej Sobolewski