Prof. zw. dr hab. Wiesław Nowak
Zakład Biofizyki i Fizyki Medycznej
Instytut Fizyki
Uniwersytet M. Kopernika w Toruniu
87-100 Toruń
ul. Grudziądzka 5

(wiesiek@fizyka.umk.pl)
+48.56.611.32.04

Toruń, 24.03.2017 r.

Recenzja rozprawy habilitacyjnej dr. Krzysztofa Murzyna

pt.

Własności strukturalne i dynamiczne interfazy dwuwarstw zbudowanych z fosfatydylocholiny, fosfatydyloetanoloaminy, fosfatydyloglicerolu i lipidu A

(zbiór publikacji)
oraz ocena dorobku naukowego habilitanta

We wszystkich zbudowanych z komórek organizmach żywych mamy przynajmniej dwa wspólne elementy: wodę i błony biologiczne. Nauki biologiczne wymagają zrozumienia fundamentalnych właściwości fizykochemicznych tych układów. Biofizyka, w początkowych fazach swego rozwoju, była przez wiele osób kojarzona z badaniami błon i nurt ten we współczesnej biofizyce jest nadal bardzo silny. Przedstawione mi do recenzji osiągnięcie habilitacyjne dr Krzysztofa Murzyna, dotyczące badań technikami symulacyjnymi właśnie modeli błon oraz wody znajdującej w ich pobliżu, dotyczy podstawowych i ważnych zagadnień, żywo dyskutowanych w literaturze naukowej. Natura oddziaływań występujących np. w dwuwarstwach lipidowych ma znaczenie w zrozumieniu, np. wpływu temperatury na organizmy żywe, zjawisk transportowych, rozpoznawania cząsteczek sygnałowych, agregacji białek błonowych, działania receptorów i niektórych leków. Procesy zachodzące na poziomie atomowych, a zwłaszcza ich aspekty dynamiczne, można obecnie skutecznie badać metodami symulacji komputerowych. Metody te, rozwijane w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat, są w pełni uznanym narzędziem w badaniach biofizycznych, chemicznych, stricte fizycznych czy biologicznych. Do ich popularności przyczynia się rozwój technologii komputerowej (sieci światłowodowe, tanie i wydajne klastry obliczeniowe) oraz łatwo dostępne, wydajne oprogramowanie mające coraz szerszy zakres stosowalności.

Osiągnięcie habilitacyjne dr. Krzysztofa Murzyna z Uniwersytetu Jagiellońskiego, stanowiące cykl 5 wieloautorskich publikacji (**h1- h5**) o spójnej tematyce, dotyczy badania struktury i dynamiki fragmentów błon modelowych o starannie wybranym składzie chemicznym oraz

cytowań obcych wszystkich prac powstałych przy udziale habilitanta wynosi 722 (h=15) co jest w mojej ocenie bardzo dobrym wynikiem jak na ten etap rozwoju naukowego.

Poniżej omówię krótko poszczególne publikacje składające się na osiągnięcie habilitacyjne, po tym sformułuję ogólną ocenę wkładu habilitanta do dziedziny, a następnie dokonam oceny dorobku naukowego kandydata do stopnia naukowego.

h1.

Róg T, **Murzyn K**, Pasenkiewicz-Gierula M. (2003) *Molecular dynamics simulations of charged and neutral lipid bilayers: treatment of electrostatic interactions*. Acta Biochimica Polonica 50:789-798

Jest to niezbyt obszerna, bardzo jasno napisana , pokonferencyjna praca zwracająca uwagę na pewien istotny aspekt skutecznego symulowania dynamiki lipidowej dwuwarstwy modelowej. W polu siłowym opisującym zależność energii układu od chwilowych położeń atomów mamy sumy podwójne biegnące po wszystkich atomach (N może łatwo osiągać wartości powyżej 100 000). Z tego względu elektrostatyczne oddziaływania długozasięgowe zwykle obcina się przy pewnej założonej odległości. Zwykle takie przybliżenie nie wnosi poważnych artefaktów do symulowanego układu. Jednak tam gdzie pojawiają się silnie naładowane grupy funkcyjne (np. w kwasach nukleinowych) sytuacja może być odmienna. Dlatego od ponad 20 lat w symulacjach MD stosuje się niekiedy metodę sumowania Ewalda, zaproponowaną w latach 20tych do badania kryształów jonowych. W publikacji h1 Autorzy zastosowali pewien wariant sumowania zwany metodą PME (*particle-mesh Ewald*) do oceny wpływu obcięcia oddziaływań elektrostatycznych na dynamikę dwuwarstw i wody ich w pobliżu. Okazało się, iż w przypadku neutralnych fosfolipidów (POPC) MD z obcięciem prowadzi do takich samych rezultatów jak PME MD, jednak w przypadku błon złożonych z naładowanych molekuł POPG klasyczne symulacje prowadzą do błędnych wyników i konieczne jest stosowanie PME (lub uwzględnienie pełnego zakresu oddziaływania w inny sposób). Praca ta jest pozornie bardzo prosta, jednak moim zdaniem w elegancki i pomysłowy sposób wnosi ważny wkład metodologiczny do praktyki biofizycznych symulacji dynamiki błon. Można mieć zastrzeżenia co do zakresu czasowego testów (<10 ns), jednak z mojej praktyki wynika, że obserwacje i wnioski przy zastosowaniu dłuższych skal czasowych nie zmienią się, gdyż próbki przebadane w tym projekcie były wystarczająco reprezentatywne.

h2

Murzyn K, Róg T, Pasenkiewicz-Gierula M. (2005) *Phosphatidylethanolamine-phosphatidylglycerol bilayer as a model of the inner bacterial membrane*. Biophysical Journal 88:1091-1103

Skład chemiczny , tj. kompozycja części polarnych i niepolarnych , składników błon komórkowych jest zmienny i zależy nie tylko od konkretnego rodzaju czy nawet gatunku biologicznego, ale również lokalizacji danej błony w komórce. Zmienność składu odbija się na odmiennych właściwościach fizykochemicznych tych błon, m.in. płynności , temperaturach przejść fazowych czy współczynnikach dyfuzji lateralnej białek. W pracy h2 badane były modele wewnętrznej błony bakteryjnej, która złożona jest głównie z estrów kwasów tłuszczowych (PO) oraz fosfatydyloetanoloaminy (PE) oraz fosfatydyloglicerolu (PG). Dla porównania podano też dane dla dwuwarstw występujących w komórkach zwierzęcych, zawierających jako główny składnik lipidowy fosfatydylocholinę (PC). Główne zagadnienie biologiczne „atakowane" w tej publikacji metodami symulacyjnymi polegało na podaniu wyjaśnienia jaki jest mechanizm molekularny pomagający bakteriom przetrwać stres wywołany obecnością rozpuszczalników organicznych w środowisku. W innych publikacjach zaobserwowano, że bakterie te mają zmienione proporce frakcji PE i PG w błonach wewnętrznych na

pobliżu błony, dynamikę rotacyjną wody, dynamikę oddziaływań cząsteczek lipidów, czasy życia wiązań wodorowych i mostków wodnych. Ten ostatni parametr moduluje zwartość i trwałość błony. Ważnym wnioskiem z omawianych badań , oprócz oceny możliwych efektów strukturalnych D20 w układach biologicznych, jest zwrócenie uwagi społeczności biofizyków na to, że popularna w badaniach spektroskopowych D_20 (np. w NMR) jednak może w znaczącym stopniu wpływać na dynamikę badanych zjawisk. Chociaż w tej publikacji udział habilitanta nie jest dominujący, a praca ma stosunkowo mało cytowań, uważam, iż był to bardzo ciekawy i pomysłowy projekt, solidne wykonany, dający nowe informacje dla kluczowego w biologii zjawiska. Wyniki są pouczające, jedynie co mnie trochę martwi to duży optymizm Autorów wykazany we fragmencie oceniającym jakość modeli wody: model SPC jest popularny, jednak na pewno nie idealny, woda od wielu lat wymyka się biofizykom z porządnego modelowania klasycznego i nie ma jeszcze (i pewnie nie będzie) modelu wody dającego dobry opis wszystkich jej aspektów fizykochemicznych.

h4.

Murzyn K, Bratek M, Pasenkiewicz-Gierula M. (2013) *Refined OPLS All-Atom Force Field Parameters for n-Pentadecane, Methyl Acetate, and Dimethyl Phosphate.* Journal of Physical Chemistry B 117:16388-16396

Kolejna recenzowana praca właśnie dotyczy problemu poprawnej parametryzacji badanych układów chemicznych. W klasycznym modelowaniu, niestety, obowiązuje ta sama zasada co wszędzie w fizyce *„ garbage in – garbage out"*. Ponieważ oddziaływania determinujące wyniki symulacji mają być jak najprostsze analitycznie oraz powinny poprawnie imitować rzeczywistość, a zależą w zasadniczy sposób od przyjętych do opisu parametrów, dobór tych ostatnich jest kluczowy dla sukcesu badań i poprawności wniosków. Nie ma powszechnie zaakceptowanej metody doboru parametrów dla danego pola siłowego. Są pewne heurystki i omawiana publikacja też z tego korzysta. Podjęto próbę ulepszenia parametrów pola OPLS w wersji pełnoatomowej dla kilku prostych molekuł , stanowiących prototypowe układy do konstrukcji składników błon biologicznych. Zadanie to jest równie ważne co niewdzięczne. „Nikt" tego nie lubi robić, a ktoś musi. Habilitant zadał sobie ten trud i trzeba Go za to pochwalić. Z punktu widzenia oryginalności nie ma tej publikacji niczego wielkiego. Jednak poprzez systematyczne i cierpliwe badania Autorom udało się opracować serie nowych parametrów opisujących lepiej takie wielkości jak, m.in., gęstości, temperatury topnienia, lepkość, współczynniki dyfuzji. Jest to zatem postęp metodologiczny i może skromny, ale zauważalny wkład do biofizyki teoretycznej i metodologii symulacji modeli błon. Praca jest stosunkowo nowa (2013), zatem nie można jeszcze ocenić czy zaproponowane parametry przyjmą się i będą powszechnie cytowane, jeśli tak, to liczba tych cytowań (jak w wielu wcześniejszych publikacjach tego typu) może być bardzo duża.

h5.

Murzyn K, Pasenkiewicz-Gierula M. (2015) *Structural Properties of the Water / Membrane Interface of a Bilayer Built of the E. coli Lipid A.* Journal of Physical Chemistry B 119:5846–5856

Gram-ujemne bakterie mogą stanowić poważne zagrożenie życia, gdyż czasami powodują przypadki sepsy. W jej przebiegu obserwuje się ostrą odpowiedź zapalną na lipopolisacharydy (LPS) uwolnione ze ścian komórkowych bakterii. LPS zawiera złożony związek chemiczny zwany lipidem A, polarna głowa lipidu A ma swoim składzie disacharyd (2x N-glukozoamina), część niepolarna jest złożona z 6 nasyconych łańcuchów alifatycznych (n=14). Zarówno LPS jak i lipid A odgrywają kluczową rolę w zachowaniu stabilności zewnętrznej części błony bakterii Gram-ujemnych. W omawianej pracy habilitant podjął ambitną próbę zbudowania modelu błony złożonej z lipidu A oraz zbadaniu właściwości strukturalnych tego układu. W tym celu należało opracować nowe parametry pola siłowego OPLS (h4). Zostały one zastosowane do submikrosekundowych symulacji modelowej dwuwarstwy złożonej z lipidu A występującego w ścianach komórek *E.Coli* (ECLA). Badania wskazały, który z 3 schematów symulacji jest najlepszy i przyniosły nowe dane strukturalne. Obliczono profile

Chem. Inf. Model. (IF 4), w mega-journalu PLOS One (IF 3.7), a nawet w stricte biologicznym Cytokine&Grwth Factor Reviews (IF 6.5). Jedna z prac (opis programu komputerowego) osiągnęła 111 cytowań. Tematyka tych publikacji jest urozmaicona, ale zawsze związana z biologią, biofizyką bądź bioinformatyką. Habilitant wykorzystywał swoje umiejętności w dziedzinie modelowania molekularnego i badał różne problemy np. oddziaływania białek (EGF, cytochrom c, magainina) z błonami, prowadził analizy bioinformatyczne sekwencji białek (chemeryna, SLPI, syntetza detiobiotyny), czy badał dynamikę innych niż w recenzowanym cyklu modeli błon (m.in. przed doktoratem). W dorobku znajduje się kilka publikacji, głównie o charakterze przeglądowym w innych niż lista A czasopismach naukowych. Znalazłem tylko jedną pracę monoautorską habilitanta i to właśnie o takim charakterze („Woda w symulacjach dynamiki molekularnej, Postępy Biologii Komórki 2002).

Habilitant jest współautorem zgłoszenia patentowego (Peptyd chemerynowy.., 2013) co mnie szczególnie cieszy, gdyż pokazuje aplikacyjną wartość badań bioinformatycznych i symulacyjnych.

Sumaryczna liczba punktów MNiSZW (2015) wynosi 700 pkt. Jak wspomniałem indeks Hirscha (WoS) jest w mojej ocenie b. dobry (h=15), jego znaczenie osłabia nieco długi czas jaki upłynął od rozpoczęcia działalności naukowej habilitanta. Łączna liczba cytowań obcych (WoS) to 722. Wskaźniki bibliometryczne są, jak widać, przyzwoite i lokują się nawet powyżej średniej z nauk ścisłych spotykanych w ostatnim czasie w przewodach habilitacyjnych.

Dr K. Murzyn prezentował wyniki na konferencjach międzynarodowych około 35 razy, w tym 5 razy w formie referatów, prowadził warsztaty bioinformatyczne. 2 razy był członkiem komitetów organizacyjnych konferencji naukowych. Aktywność „konferencyjną" kandydata do stopnia dr habilitowanego oceniam jako dość dobrą.

Udział w projektach naukowych i działalność organizacyjna

Aktywność habilitanta w dziedzinie realizacji i kierowania projektami naukowymi jest dobra. Przed doktoratem był wykonawcą lub głównym wykonawca w 3 projektach KBN (199-2003). Był wykonawcą w 5 Programie Ramowym UE (projekt BIER, 2001-2002). Po doktoracie był wykonawcą w 3, a głównym wykonawcą w 1 projekcie KBN, w jednym projekcie

naukowy w znanej grupie prof. W. Minora (USA). Aktywność habilitanta w tej dziedzinie jest raczej przeciętna czy nawet niska, zważywszy na umiędzynarodowienie współczesnej nauki.

Wyróżnienia i odznaczenia

Krzysztof Murzyn był laureatem prestiżowego stypendium dla młodych naukowców FNP w latach 2001-2002. Praca doktorska była wyróżniona. W roku 2002 kandydat zdobył zespołową nagrodę Ministra Edukacji Narodowej i Sportu. Uzyskał też dwukrotnie nagrodę JM Rektora UJ w 2003 (indywidualna) i w 2004 (I stopnia, zespołowa). W roku 2006 był laureatem stypendium Fundacji im. A. Krzyżanowskiego.

Konkluzja

Przedstawione do oceny osiągnięcie habilitacyjne, chociaż dość skromne jeśli chodzi o liczbę publikacji, z pewnością stanowi istotny wkład do biofizyki i oceniam je pozytywnie. Zawiera ono spójne, nowe i oryginalne wyniki na temat struktury i dynamiki błon modelowych. Prace, składające się na osiągnięcie habilitacyjne powstały z pewnością dzięki aktywności i twórczemu wkładowi dr Krzysztofa Murzyna. Przyczyniły się one do zrozumienia ważnych w biologii układów molekularnych. Wyniki są dostrzeżone w piśmiennictwie światowym. Poziom uprawianych specjalistycznych badań naukowych jest wysoki. Kandydat jest w swojej dziedzinie ekspertem o kalibrze międzynarodowym. **Dorobek naukowy Pana dr Krzysztofa Murzyna jest więcej niż dobry. Wykazuje on istotną aktywność naukową, którą oceniam wysoko.** Osiągnięcia dydaktyczne są znakomite, a dorobek w dziedzinie kierowania projektami jest zauważalny. **Stwierdzam, że osiągnięcia te spełniają w pełni wymagania sformułowane w Ustawie** z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm., Dz. U. z 22 grudnia 2014, poz. 1852 – tekst jednolity). Opinia moja oparta jest, m.in., o kryteria podane w rozporządzeniu ministra z dnia 1 września 2011 (Dz.U. nr 196, poz. 1165). **Składam zatem wniosek o dopuszczenie dr. Krzysztofa Murzyna do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego**. Wg mnie dr Krzysztof Murzyn zasługuje na uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, dyscyplinie biofizyka.

G. Nowak