



dr hab. inż. Jacek Czub
Katedra Chemii Fizycznej
Politechnika Gdańska
ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk
tel. +48 535970599
e-mail: jacek.czub@pg.edu.pl

Gdańsk, 06.11.2018

Ocena

osiągnięć naukowych oraz całokształtu dorobku pana doktora Piotra Setnego w związku z postępowaniem o nadanie mu stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk fizycznych, w dyscyplinie fizyka

Pan dr Piotr Setny ukończył studia na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, gdzie w 2003 roku uzyskał tytuł zawodowy magistra fizyki. W roku 2008 na tym samym Wydziale obronił z wyróżnieniem rozprawę doktorską pt. „*Badanie oddziaływań hydrofobowych metodami symulacji komputerowych*”, uzyskując stopień doktora fizyki. W kolejnych latach odbył staże podoktorskie na University of California w San Diego w grupie prof. J. A. McCammona (2009) a następnie w Technische Universität München w grupie prof. M. Zacharias (2009-2013). Od 2013 roku p. dr Setny pracuje na stanowisku adiunkta naukowego w Centrum Nowych Technologii na Uniwersytecie Warszawskim jako adiunkt naukowy.

Do momentu złożenia wniosku Habilitant opublikował 27 artykułów w czasopismach z listy JCR (13 po uzyskaniu stopnia doktora), z czego 8 stanowi osiągnięcie naukowe przedłożone jako podstawa wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Niektóre z tych prac ukazały się w prominentnych periodykach kierowanych do szerokiej społeczności naukowych, takich jak *J. Am. Chem. Soc* czy *Proc. Natl. Acad. Sci.*, co sugeruje zaawansowany charakter prowadzonych badań oraz ich duży walor nowości naukowej. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) tych publikacji wynosi ok. 128. Habilitant jest także współautorem rozdziału w jednej monografii naukowej oraz zaprezentował 13 referatów na międzynarodowych konferencjach naukowych (w tym dwa na zaproszenie). Publikacje pana dra Setnego były do momentu składania wniosku cytowane 574 razy (nie wliczając autocytowań), zaś jego indeks Hirscha wynosi 12. Dwie prace będące owocem stażu w grupie prof. McCammona zebrały dotąd znacznie powyżej 100 cytowań. Biorąc pod uwagę wiodący udział Habilitanta w powstaniu dużej części jego prac – potwierdzony także w oświadczeniach współautorów, przytoczone powyżej dane bibliometryczne jednoznacznie sytuują dorobek naukowy Habilitanta wśród najlepszych na tym etapie kariery naukowej.

Jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego pan dr Piotr Setny przedłożył cykl ośmiu artykułów naukowych opatrzony tytułem „*Modelowanie i analiza efektów hydratacyjnych w układach biomolekularnych*”. Cykl ten poświęcony jest badaniu i modelowaniu roli, jaką w funkcjonowaniu biocząsteczek pełni środowisko wodne, i jako taki spełnia w mojej opinii ustawowy wymóg jednotematyczności.

Jako rozpuszczalnik w którym wyewoluowały żywe organizmy, woda wpływa na przebieg niemal wszystkich procesów biologicznych. Stanowi ona nie tylko środowisko dla rozpuszczonych w niej polarnych biocząsteczek, ale za sprawą swoich specjalnych właściwości, takich jak wysoka stała dielektryczna i możliwość tworzenia wiązań wodorowych, odgrywa fundamentalną rolę w modulowaniu oddziaływań pomiędzy nimi a także wpływa na równowagę konformacyjną biopolimerów, w tym na stabilność natywnych form białek i kwasów nukleinowych. Ponadto, w wielu sytuacjach cząsteczki wody zaangażowane są w procesy komórkowe bezpośrednio, np., jako jeden z substratów w reakcjach hydrolizy enzymatycznej lub jako specyficzne elementy strukturalne na powierzchni biomakrocząsteczek współodpowiedzialne za wiązanie ligandów i rozpoznanie molekularne. Ta różnorodność efektów hydratacyjnych znajduje także odzwierciedlenie w przedłożonym cyklu publikacji, w ramach którego Autor wykorzystał metody modelowania numerycznego do analizy zarówno modulującego udziału rozpuszczalnika w asocjacji hydrofobowej, jak i roli zlokalizowanych cząsteczek wody w centrum aktywnym enzymu. Jak słusznie zauważa pan dr Setny, wobec ograniczeń metod doświadczalnych, to właśnie symulacje komputerowe, oparte o formalizm mechaniki statystycznej, mogą dawać jednoczesny precyzyjny wgląd w strukturę i dynamikę cząsteczek wody w charakterystycznym dla układów biologicznych szerokim zakresie skal przestrzennych i czasowych.

W trzech przedkładanych pracach wieloautorskich pan dr Setny ocenia swój wkład na 40–45 %, w trzech kolejnych na 90–95 %, zaś dwie pozostałe stanowią prace jednoautorskie (udział 100 %). Z taką oceną wkładu pracy w pełni współbrzmia oświadczenia współautorów. Ponieważ dodatkowo we wszystkich pracach cyklu Habilitant zajmuje pierwsze miejsce na liście autorów (w dwóch wspólnie z innym autorem) a w siedmiu jest autorem korespondującym (w dwóch wspólnie z innymi autorami), nie ma najmniejszej wątpliwości, że był on wiodącą osobą w realizacji badań składających się na osiągnięcie habilitacyjne. Był on autorem lub współautorem koncepcji wszystkich prac, samodzielnie zaproponował i rozwinął nowe podejścia metodyczne, zaimplementował oryginalne algorytmy oraz wykonał większość pracy związanej z realizacją i analizą wyników symulacji. Wszystkie prace składające się na osiągnięcie habilitacyjne zostały opublikowane w renomowanych czasopismach recenzowanych (w tym tak uznanych jak wspomniane wyżej *JACS* i *PNAS*), zatem poddane zostały bardzo skrupulatnej i rygorystycznej ocenie merytorycznej przez

niezależnych ekspertów. Znacząca liczba ich cytowań w literaturze przedmiotowej świadczy o tym, że wywołały także pozytywny odzew wśród społeczności naukowej.

W pierwszej części cyklu (prace [H1–H3]), Habilitant zajął się szczegółową analizą roli cząsteczek wody w procesach asocjacji ligand-receptor, wykorzystując w tym celu modelowy układ, w którym ligand reprezentowany był jako sfera, receptor jako półkolistą, wklęsłą wnęką, zaś cząsteczki rozpuszczalnika uwzględnione zostały w reprezentacji pełnoatomowej. Polarność liganda i receptora kontrolowana była przez wartość i położenie ładunków punktowych ulokowanych w centrum sfery i na dnie wnęki. Wykorzystując dynamikę molekularną (MD) do wyznaczenia temperaturowej zależności potencjałów średniej siły dla wiązania sfery do wnęki, Habilitant zdekomponował energię swobodną asocjacji ligand/receptor na wkłady entalpowe i entropowe. Na podstawie tej dekompozycji oraz dzięki porównaniu z wynikami otrzymanymi dla analogicznego wiązania w próżni możliwe było wyciągnięcie szeregu interesujących wniosków dotyczących sił napędowych procesu asocjacji. W szczególności Autorzy zaproponowali, w jaki sposób takie czynniki, jak koszt dehydratacji liganda i wnęki, ich wzajemne bezpośrednie oddziaływanie, mediowany przez wodę efekt hydrofobowy a także fluktuacje gęstości rozpuszczalnika we wnęcie determinują efektywną siłę wiązania w zależności od stopnia polarności asocjujących cząsteczek. Szczególnie zaskakujące okazały się wyniki dla układu najbardziej hydrofobowego (ściśle neutralnego), badanego szczegółowo w pracy [H2]. W tym przypadku Habilitant stwierdził entalpowy charakter sił napędowych, co jest w sprzeczności z przewidywaniami większości alternatywnych modeli efektu hydrofobowego oraz eksperymentalnie obserwowaną zależnością energii swobodnej asocjacji hydrofobowej od temperatury. Chętnie poznałbym opinię Habilitanta na temat tego, w jakim stopniu taki intrygujący wynik może wynikać z zastosowania niepolaryzowalnego modelu cząsteczek wody. Użyte atomowe modele wody posiadają trwały moment dipolowy odpowiadający silnie spolaryzowanym cząsteczkom we wnętrzu roztworu, co może być nieadekwatne dla precyzyjnego opisu ich elektrostatyki wewnątrz wnęki. W rezultacie cząsteczki wody mogą wykazywać zwiększoną tendencję do samoasocjacji, co rzeczywiście było obserwowane między innymi w symulacjach spontanicznego formowania dwuwarstw lipidowych. W tym kontekście interesujące byłoby rozwinięcie prezentowanego podejścia poprzez wykorzystanie polaryzowalnego modelu wody (np. molekuly Drude'a) i/lub dynamiki molekularnej ab initio.

Za bardzo interesujące uważam także wyniki uzyskane w pracy [H3], w której Habilitant wraz ze współpracownikami pokazał, że sprzężenie dynamiki ruchu liganda z fluktuacjami gęstości wody we wnęcie prowadzi do znacznego obniżenia stałej szybkości wiązania. Okazało się, że obniżenie to można odtworzyć w prostej dynamice Brownowskiej, jeśli zamiast stałej wartości współczynnika dyfuzji liganda wykorzystamy jego pełną zależność od odległości sfera-wnęka, uzyskaną z rozkładu MFPT zarejestrowanego w symulacji MD, przy założeniu czysto markowskiego charakteru dynamiki liganda.

Ponadto, Autorzy dyskutują także zaskakującą relację między takim efektywnym profilem dyfuzyjności (lub adekwatnie – współczynnika tarcia) a profilem wyznaczonym rygorystycznie na podstawie autokorelacji sił działających między ligandem a cząsteczkami wody w symulacji MD.

W pracy [H4] pan dr Piotr Setny zbadał w jakim stopniu numeryczne metody przewidywania energii swobodnej hydratacji, stosowane dotąd przede wszystkim dla niewielkich cząsteczek i związków lekopodobnych, nadają się także do opisu termodynamiki hydratacji biomakrocząsteczek. W tym celu badał zmiany energii swobodnej hydratacji towarzyszące zmianom konformacyjnym wybranego zestawu testowego białek, wykorzystując dwa modele pełnoatomowe wraz z metodą całkowania termodynamicznego w symulacji MD a także ciągły model rozpuszczalnika oparty o rozwiązanie równania Poissona (brak jonów w roztworze) i człon niepolarny zależny liniowo od rozmiarów molekuly. Zaobserwował, że wyniki uzyskane dla obu pełnoatomowych modeli wody (TIP3P i SPC/E) są relatywnie spójne (szczególnie w przypadku wkładu elektrostatycznego) i znacząco różnią się od tych dla modelu uproszczonego. Rozbieżności te skalowały się z polem powierzchni białek, co wskazuje, że model ciągły ma trudności przede wszystkim z właściwym oddaniem złożonego zachowania i energetyki rozpuszczalnika w otocze hydratacyjnej. Dodatkowo Habilitant zbadał, w jakim stopniu wyniki uzyskiwane z użyciem modelu uproszczonego są wrażliwe na (częściowo arbitralny) dobór parametrów metody. Ustalił, że dobór ten jest często trudny a parametry uzyskane na podstawie zbiorów uczących złożonych z małych cząsteczek nie są zwykle odpowiednie do badania białek. Trudności polegały m.in. na definicji powierzchni granicznych i przypisaniu obszarom dyskretnych wartości stałej dielektrycznej na potrzeby obliczeń wkładu elektrostatycznego. W niektórych sytuacjach nieadekwatny okazał się także uproszczony opis wkładu niepolarnego, który w przypadku makrocząsteczek może być na tyle duży, że jego poprawne uwzględnienie jest kluczowe dla możliwości przewidywania równowagi konformacyjnej. W ramach pracy [H4] Habilitant opracował też oryginalną i uniwersalną metodę udokładnienia przewidywanych przyrostów funkcji stanu oraz ustalił, że obliczane wartości energii swobodnej solwatacji są wrażliwe na zastosowane periodyczne warunki brzegowe.

W pracach [H5-H7] pan dr Setny zaproponował i rozwinął nowy obiecujący sposób opisu hydratacji biocząsteczek pozbawiony licznych wad tradycyjnych podejść, w szczególności opartego o równanie Poissona-Boltzmann z członem niepolarnym liniowo zależnym od powierzchni eksponowanej na rozpuszczalnik (PBSA). W zaproponowanym modelu środowisko wodne reprezentowane jest w sposób dyskretny na sieci typu BCC, której obsadzenie przez cząsteczki wody wyznaczone jest na podstawie wartości ich lokalnego potencjału chemicznego poprzez wykorzystanie podejścia nawiązującego do metody automatów komórkowych. Sam potencjał chemiczny w danym węźle sieci jest wyznaczany poprzez Boltzmannowskie uśrednienie energii efektywnych oddziaływań cząsteczki wody

z solwatowaną molekułą i sąsiednimi cząsteczkami rozpuszczalnika po 12 możliwych orientacjach cząsteczki. Lokalne uśrednianie po orientacjach zapobiega konieczności prowadzenia kosztownej obliczeniowo procedury iteracyjnej. Oryginalne sformułowanie modelu i jego wstępna parametryzacja w oparciu o zbiór ponad 150 cząsteczek lekopodobnych została przedstawiona w pracy [H5], zaś dalszy rozwój, polegający m.in. na redukcji liczby parametrów fitowalnych oraz dodaniu poprawek na dalekozasięgowe oddziaływania elektrostatyczne, w pracy [H6]. Dzięki takim cechom jak wyeliminowanie arbitralnych powierzchni granicznych i możliwość opisu efektów wysuszenia podejście zaproponowane przez Habilitanta pozwala na dokładniejsze przewidywanie energii swobodnej hydratacji niż metoda PBSA przy porównywalnym koszcie obliczeniowym, co zostało także zaprezentowane w pracy [H6]. Zrównoleglony kod implementujący metodę dostępny jest do pobrania, zaś uruchomiony niedawno serwer wykonujący obliczenia w sposób zdalny z pewnością zwiększy jej zasięg i znaczenie wśród społeczności naukowej. W pracy [H7] pan dr Setny eksploatował unikalną właściwość rozwijanego modelu hydratacji, która pozwala na przewidywanie rozkładu cząsteczek wody na powierzchni biomolekuł i oszacowanie ich energii swobodnych wiązania. Wyniki takie mogą mieć znaczenie m.in. dla numerycznego projektowania leków w oparciu o strukturę celu komórkowego, gdyż – jak wielokrotnie pokazywano – uwzględnienie wody strukturalnej w kieszeniach wiążących białek poprawia zdolność predykcyjną dokowania molekularnego.

W ostatniej, również bardzo interesującej pracy wchodzącej w skład przedłożonego cyklu publikacji ([H8]), pan dr Setny badał znaczenie dwóch specyficznych miejsc hydratacyjnych w centrum aktywnym kinazy białkowej A dla mechanizmu kooperatywnego wiązania ATP oraz substratu peptydowego. Wykazał, że jedna ze specyficznie związanych cząsteczek wody bierze udział w transmisji sygnału allosterycznego indukowanego przez wiązanie ATP i prowadzącego do zwiększenia powinowactwa do substratu peptydowego. Grupa słabiej związanych cząsteczek w drugim miejscu hydratacyjnym okazała się z kolei niezbędna dla zapewnienia dostatecznej giętkości konformacyjnej kieszeni wiążącej peptyd. Zaproponowany model mechanizmu wiązania substratów modulowany przez cząsteczki wody hydratacyjnej wyjaśnia także zniesienie kooperatywności wiązania przez mutację Tyr204 w centrum aktywnym.

Reasumując, uważam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe pana dra Setnego stanowi bardzo solidny i spójny tematycznie cykl publikacji, który w znacznym stopniu przyczynił się do pogłębienia wiedzy na temat hydratacji biocząsteczek i roli wody hydratacyjnej w procesach biomolekularnych. Wprowadzony w ramach tego cyklu interesujący dyskretny model hydratacji wypełnia istotną lukę wśród wcześniej dostępnych metod, oferując stosunkowo precyzyjny opis struktury i termodynamiki wody hydratacyjnej przy zachowaniu wysokiej wydajności obliczeniowej. Jako taki bez wątpienia znajdzie zastosowanie do badania różnego typu procesów którym podlegają biocząsteczki, takich jak

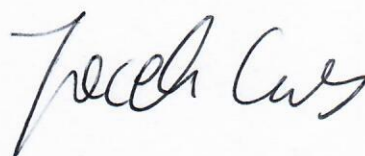
zmiany konformacyjne i rozpoznanie molekularne. Może posłużyć także do usprawnienia komputerowego projektowania związków o aktywności biologicznej.

Warte podkreślenia jest również zaangażowanie pana dra Setnego w szereg innych interesujących projektów badawczych niewłączonych w skład osiągnięcia habilitacyjnego. W ramach tych badań nawiązał on wiele wartościowych współprac naukowych z uznanymi uczonymi w Polsce i za granicą. Wymienić można w tym miejscu m.in., prace nad gruboziarnistym modelem służącym do przewidywania sposobu oddziaływania białek z kwasami nukleinowymi (współpraca z prof. M. Zachariasem), szczegółowe badanie relacji między oddziaływaniami hydrofobowymi a efektem wysuszenia (współpraca z prof. Joachimem Dzubiellą, Centrum Helmholtza w Berlinie) oraz badanie struktury i dynamiki peptydów fuzyjnych wirusa grypy oraz ich wpływu na właściwości błony lipidowej (współpraca z dr. Remigiuszem Worchem, PAN).

Pan dr Setny potrafi bardzo efektywnie pozyskiwać środki na realizację badań naukowych. Na potrzeby rozwoju swojego modelu hydratacyjnego uzyskał z Fundacji na rzecz Nauki Polskiej grant Homing Plus, którym kierował w latach 2013–2015. Uzyskał także z Narodowego Centrum Nauki grant Sonata przeznaczony na badania hydratacji kinaz białkowych (2014–2018) a także prestiżowy grant instalacyjny organizacji EMBO, także na badania związane z hydratacją w układach biomolekularnych (2015–2019). Otrzymał również stypendium dla wizytującego badacza w grupie J.A. McCammona na UCSD. O wysokim uznaniu społeczności uczonych dla badań prowadzonych przez Habilitanta świadczy także fakt, że został zaproszony i/lub wybrany do wygłoszenia referatów na szeregu ważnych konferencji naukowych (m.in. zjazdy American Chemical Society i Biophysical Society w San Francisco). Sam także był zaangażowany we współorganizację szeregu warsztatów i konferencji w Polsce i za granicą. Ponadto zrecenzował 12 manuskryptów publikacji naukowych nadesłanych do redakcji czasopism z listy JCR, takich jak *Journal of Chemical Theory and Computation* i *Journal of Chemical Physics*. Został również zaproszony w charakterze recenzenta do programu stypendialnego UE pod patronatem Marie Skłodowskiej-Curie, kierowanego do młodych badaczy w dziedzinie nauk o życiu.

Wysoko oceniam także dorobek dydaktyczny i popularyzatorski pana dra Setnego. W czasie studiów doktoranckich na Wydziale Fizyki UW prowadził on ćwiczenia rachunkowe w ramach szeregu kursów, m.in., „Elektryczność i magnetyzm” i „Mechanika kwantowa II”. W trakcie stażu doktorskiego w Monachium współprowadził wykład z podstaw i zastosowań dynamiki molekularnej, zaś po zatrudnieniu w Centrum Nowych Technologii UW wykład „Bioinformatyka i modelowanie”. Habilitant był także promotorem jednej pracy magisterskiej obronionej na Wydziale Fizyki UW i sprawował opiekę merytoryczną nad realizacją trzech prac doktorskich (IBB PAN oraz UW). Był również zaangażowany w organizację oraz brał udział jako wykładowca i instruktor w szeregu szkoleń, warsztatów oraz konferencji o charakterze popularyzatorskim.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożone przez pana dra Piotra Setnego osiągnięcie naukowe, jakim jest monotematyczny cykl publikacji, stanowi znaczny wkład Autora w rozwój nauk fizycznych w dyscyplinie fizyka oraz że w tej dziedzinie Habilitant „wykazuje się istotną aktywnością naukową”. Pan dr Setny zdobył uznanie międzynarodowej społeczności naukowej, co wyraża się w znaczącej liczbie cytowań jego publikacji, a także uzyskał kwalifikacje do prowadzenia samodzielnej działalności badawczej i nauczania na poziomie akademickim. Wobec spełnienia wymogów Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. Nr 65, poz. 595), z późniejszymi zmianami (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789), wnoszę do Komisji Habilitacyjnej o dopuszczenie pana dra Piotra Setnego do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.



Jacek Czub