



Wrocław, dnia 7 czerwca 2022 r.

Prof. dr hab. inż. W. Andrzej Sokalski
Instytut Materiałów Zaawansowanych I01W03D10
Wydział Chemiczny
Politechnika Wrocławska
Wyb. Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Michała Michałowskiego pt. "Rola oddziaływań w ortosterycznym miejscu wiążącym agonistę oraz pomiędzy podjednostkami w aktywacji i modulacji receptora GABA typu A" wykonanej na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzego W. Mozrzymasa.

Recenzowana rozprawa doktorska posiada charakter interdyscyplinarny, z pogranicza biofizyki i chemii obliczeniowej. Jej przedmiotem jest analiza mechanizmu działania receptora jonotropowego kwasu gamma-aminomasłowego GABA typu A. Obiekt ten nie został wybrany przypadkowo, ponieważ pełne poznanie struktury i funkcji tego białka ma duże znaczenie w zrozumieniu funkcjonowania ośrodkowego układu nerwowego i ew. zastosowaniach w neurofarmakologii. Systematyczne i zaawansowane badania doświadczalne w tym zakresie prowadzi od lat zespół promotora rozprawy Prof. Jerzego Mozrzymasa, a niniejsza rozprawa poświęcona jest zastosowaniu teoretycznych metod modelowania molekularnego do uzupełnienia wiedzy na temat struktury i funkcji wspomnianych receptorów o informacje niedostępne doświadczalnie.



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl

REGON: 000001614
NIP: 896-000-58-51
Bank Zachodni WBK S.A.
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



Rozprawa mgr Michałowskiego składa się ze streszczenia w języku polskim i angielskim, 24 stronicowego wprowadzenia oraz opisu celu pracy, 3 stronicowego podsumowania z wnioskami, bibliografii obejmującej 85 pozycji literaturowych, w tym 32 z ostatnich 5 lat oraz oświadczeń współautorów.

Główną część rozprawy stanowi sześć oryginalnych publikacji w czasopismach notowanych w Journal Citation Reports (łączny współczynnik oddziaływania 29.493) oraz liście czasopism punktowanych Ministerstwa Edukacji i Nauki (łącznie 640 punktów):

- 1) "Binding site opening by loop C shift and chloride ion-pore interaction in the GABA(A) receptor model" opublikowaną w Phys.Chem.Chem.Phys. 19, 13664-13678 (2017) wspólnie z dr hab. inż. Sebastianem Kraszewskim i prof.dr hab. Jerzym Mozrzymasem.
- 2) "The beta(2) subunit E155 residue as a proton sensor at the binding site on GABA type A receptors" opublikowaną w European Journal of Pharmacology, 906, 174293 (2021) wspólnie z dr Martą Czyżewską, dr Iloną Iżykowską i prof.dr hab. Jerzym Mozrzymasem.
- 3) "The C loop at the orthosteric binding site is critically involved in GABA(A) receptor gating" opublikowaną w Neuropharmacology, 206, 107903 (2019) wspólnie z dr Katarzyną Terejko, dr inż. Przemysławem Kaczorem, mgr Agnieszką Dąbrowską i prof.dr hab. Jerzym Mozrzymasem.
- 4) "Mutations at the M2 and M3 Transmembrane Helices of the GABA(A)Rs alpha(1) and beta(2) Subunits Affect Primarily Late Gating Transitions Including Opening/Closing and Desensitization" opublikowaną w ACS Chemical Neuroscience, 12, 2421-2436 (2021) wspólnie z dr Katarzyną Terejko, dr Iloną Iżykowską, mgr Anną Dominik, mgr Aleksandrą Brzostowicz i prof.dr hab. Jerzym Mozrzymasem.
- 5) "Mutations of (alpha 1)F45 residue of GABA(A) receptor loop G reveal its involvement in agonist binding and channel opening/closing transitions" opublikowaną w Biochemical Pharmacology, 177,



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław
www.pwr.edu.pl

REGON: 000001614
NIP: 896-000-58-51
Bank Zachodni WBK S.A.
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



113917 (2020) wspólnie z dr Markiem Brodzkim, mgr Michaliną Gos i i prof.dr hab. Jerzym Mozrzymasem.

- 6) "Interaction between GABA(A) receptor alpha(1) and beta(2) subunits at the N-terminal peripheral regions is crucial for receptor binding and gating" opublikowaną w Biochemical Pharmacology, 183, 114338 (2021) wspólnie z z dr Katarzyną Terejko, mgr Anną Dominik, mgr Anną Andrzejczak i prof.dr hab. Jerzym Mozrzymasem.

Ambitnym celem podjętym w rozprawie była próba zrekonstruowania molekularnego mechanizmu aktywacji receptora GABA_A. Autor wykorzystał w tym celu szereg metod modelowania molekularnego, takich jak przewidywanie nieznanych struktur z wykorzystaniem homologii z pokrewnymi strukturami znanych białek, dynamika molekularna, przewidywanie stanów protonacji aminokwasów oraz dokowanie ligandów.

Z uwagi na wielkość badanych układów molekularnych wyniki każdej z tych technik mogą być jednak obarczone błędami. Dlatego z uwagi na interdyscyplinarny obszar badań i potencjalnych odbiorców reprezentujących inne dyscypliny warto zawsze omówić źródła możliwych błędów. W przypadku modelowania przez homologię istotna może być informacja o stopniu podobieństwa sekwencji aminokwasów, która może mieć istotny wpływ na wielkość błędu. Z kolei wyniki dynamiki molekularnej mogą zależeć od rodzaju wybranego pola siłowego. Szczególnie silną zależnością od przyjętej parametryzacji mogą charakteryzować się wyniki dokowania. Obecnie panuje przekonanie że aktualnie dostępne techniki dokowania wymagają dalszego doskonalenia (Moitiesier i współpracownicy, Acc.Chem.Res, 149, 1646 (2016). Wyjściem z tej sytuacji może być stosowanie różnych dostępnych technik dokowania i akceptowanie tylko wyników zgodnych dla większości metod co rekomenduje m.in. prof. Dariusz Plewczynski wraz ze współpracownikami w J.Comp.Biol., 21, 247 (2014)



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska

Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl

REGON: 000001614

NIP: 896-000-58-51

Bank Zachodni WBK S.A.

37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



Celem zminimalizowania niektórych z wyżej wymienionych problemów Autor weryfikował uzyskane modele strukturalne dostępnymi narzędziami takimi jak Molpdf, Qmean oraz Rampage, co może świadczyć o rzetelności Jego warsztatu.

Do najważniejszych wyników Autora można zaliczyć:

- a) Uzyskanie szczegółowych informacji strukturalnych związanych z procesem aktywacji receptora $GABA_A$ oraz dynamiką miejsca wiązania ligandu.
- b) Opracowanie modelu kinetycznego receptora opartego na elektrofizjologicznych pomiarach makroskopowych dla receptora typu dzikiego i zmutowanego oraz określenie wpływu mutacji.
- c) Przedstawienie molekularnego mechanizmu modulacji receptora w zależności od pH układu.

Warto tym miejscu warto podkreślić umiejętność powiązania uzyskanych przez Autora wyników obliczeń teoretycznych z dostępnymi informacjami doświadczalnymi.

Przechodząc do oceny recenzowanej rozprawy mgr Michała Michałowskiego stwierdzam, że stanowi ona wartościowy wkład do poznania struktury i funkcji receptora $GABA_A$. Autor wykazał się opanowaniem szeregu zaawansowanych technik modelowania molekularnego i bioinformatyki uzyskując oryginalne wyniki, które zyskały już uznanie w międzynarodowym środowisku naukowym wyrażone 22 cytowaniami prac mgr Michałowskiego przez innych autorów.

Na szczególne podkreślenie zasługuje przejrzysta forma rozprawy oraz jej zwięzła, lecz treściwa zawartość. Odnosnie strony językowej rozprawy jedyne zastrzeżenie może budzić używanie galicyzmu „modelizacja” w miejsce powszechnie przyjętego w polskiej literaturze terminu „modelowanie” względnie w kontekście niniejszej rozprawy „modelowanie molekularne”. Podejrzewam w tym zakresie wpływ



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska

Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl

REGON: 000001614

NIP: 896-000-58-51

Bank Zachodni WBK S.A.

37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



współautora publikacji nr. 1 - dr hab. Kraszewskiego, którego początki kariery naukowej miały miejsce we Francji.

Wymienione wcześniej uwagi mają wyłącznie charakter dyskusyjny i nie podważają wysokiej merytorycznej wartości pracy w pełni zasługującej na wyróżnienie, zwłaszcza, że wyniki zostały już opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych takich jak Biochemical Pharmacology, Neuropharmacology, ACS Chemical Neuroscience, European Journal of Pharmacology i Phys.Chem.Chem.Phys.

W konkluzji uważam, że przedstawiona praca spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę o dopuszczenie mgr Michała Michałowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie składam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Michała Michałowskiego. Za wyróżnieniem przemawia bardzo ciekawie dobrany temat rozprawy doktorskiej: wyjście poza dotychczasowe standardy badań w tym zakresie, powiązanie prac teoretycznych z doświadczalnymi oraz zainteresowanie wynikami mgr Michałowskiego wyrażone cytowaniami innych autorów.



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl

REGON: 000001614
NIP: 896-000-58-51
Bank Zachodni WBK S.A.
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434