

Gdańsk, 28.06.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej Mateusza Rzyckiego

pt.: „*Antimicrobial effect – decomposition of biological phenomena into physical approach – a theoretical model*”

Przedłożona do recenzji praca doktorska została wykonana przez mgr. inż. Mateusza Rzyckiego pod kierunkiem dwóch promotorów: dr hab. inż. Marty Gładysiewicz-Kudrawiec, prof. PWr i dr. hab. inż. Sebastiana Kraszewskiego, prof. PWr w Katedrze Fizyki Doświadczalnej Politechniki Wrocławskiej.

Przedmiotem rozprawy było opracowanie fizycznych i numerycznych modeli błon biologicznych pozwalających na ocenę wpływu związków powierzchniowo czynnych o strukturze gemini na fizykochemiczne i termodynamiczne parametry błon w celu oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej badanych substancji.

Podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora jest spójny tematycznie cykl czterech wieloautorskich prac oryginalnych (od 3 do 5 współautorów) opublikowanych w latach 2020-2021. Trzy prace zostały wydane w trybie „open access”, w czasopismach międzynarodowych o wysokim współczynniku oddziaływania (*IF*): *International Journal of Molecular Science (MDPI)*, *Materials (MDPI)* i *Biophysical Journal (Cell Press)*. Sumaryczny impact factor dla tych prac wynosi 13,580 wg bazy *Web of Science* i odpowiada 380 pkt. wg wykazu ministerialnego, co świadczy o wysokim poziomie zrealizowanych badań. Czwartą pracę stanowią recenzowane materiały pokonferencyjne opublikowane w *Computational Sciences (Springer International Publishing)* po udziale w konferencji *International Conference on Computational Science* w 2021 roku. Liczba cytowań prac (bez autocytowań) jest niska i wynosi wg bazy *Web of Science* 4, ale od publikacji pierwszych wyników minęły niecałe dwa lata. Godnym podkreślenia jest fakt, że Doktorant we wszystkich pracach jest zarówno pierwszym jak i korespondencyjnym autorem, co wskazuje na Jego znaczny wkład w ich powstanie oraz znajduje potwierdzenie w opisach udziału Autora w wykonanych badaniach

zamieszczonych w recenzowanej rozprawie (brak oświadczeń współautorów prac). Pan mgr inż. Mateusz Rzycki uczestniczył w opracowaniu koncepcji badań, formułował hipotezy badawcze, projektował eksperymenty, dokonywał przeglądu literatury, zajmował się modelowaniem numerycznym, prowadził symulacje dynamiki molekularnej, interpretował wyniki, wykonywał wizualizacje danych, formułował wnioski oraz zajmował się pisaniem i edytowaniem manuskryptów, a w ostatniej ze swoich publikacji również rozwojem i wprowadzaniem narzędzia Diptool przeznaczonego do szybkiej analizy cząsteczek o potencjalnym działaniu przeciwbakteryjnym.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy poprzedzone są 41 stronicowym opracowaniem zawierającym następujące rozdziały: streszczenie, wykaz stosowanych skrótów, spis treści, wprowadzenie i opis rozprawy, hipotezy, podsumowanie wyników, podsumowanie i wnioski, bibliografia, które zostały napisane w języku angielskim. Całość uzupełnia podsumowanie w języku polskim. We wprowadzeniu Doktorant opisuje zasadność poszukiwań nowych surfaktantów gemini oraz porusza zagadnienia związane z budową błony komórkowej bakterii oraz kwestie wykorzystywania modeli numerycznych w badaniach aktywności przeciwdrobnoustrojowej substancji. Tekst jest napisany jasno i klarownie, w sposób zwięzły prezentując treści niezbędne do zrozumienia dalszej części rozprawy. Następnie Doktorant przedstawia cel i hipotezy badawcze, do których konsekwentnie odnosi się w przy omawianiu wyników w kolejnych rozdziałach. Po dyskusji otrzymanych wyników uwzględniającej bieżącą literaturę formułuje trafne wnioski. Wartość przedstawionych wyników w recenzowanej pracy doktorskiej oceniam wysoko.

W pierwszej publikacji wykorzystując różne techniki numeryczne oraz eksperymentalne np. dynamikę molekularną, potencjał zeta, spektroskopię fluktuacji pęcherzyków, wyciek karboksyfluoresceiny określono miejsca preferencyjnego lokowania się dwóch antyseptycznych związków (oktenidyna - OCT, chlorheksydylna - CHX), tworzenia się agregatów i ich destrukcyjnego działania na błony. Dokonano oceny zmian parametrów mechanicznych błon pod wpływem działania badanych związków. Okazało się, że o selektywności detergentów wobec błon biologicznych decydują nie tylko oddziaływania elektrostatyczne ale również właściwości mechaniczne błon. Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły zaproponować nowatorski mechanizm selektywnego oddziaływania związków

przeciwbakteryjnych - zwłaszcza OCT, oparty o różnice emergentnych własności mechanicznych błon bakteryjnych i zwierzęcych.

Przedmiotem kolejnego etapu badań było poszukiwanie związków o budowie gemini, które wykazują silne działanie przeciwbakteryjne. Prównywanie efektywności surfaktantów często jest bardzo trudne a czasami niemożliwe, ponieważ badacze stosują różne protokoły oraz szczepy bakteryjne przy określaniu ich aktywności biobójczej. Z tych powodów Autorzy rozpoczęli prace od utworzenia własnej bazy danych, zawierającej ponad 250 cząsteczek gemini o potencjalnym działaniu bakteriobójczym, w której cząsteczki zaklasyfikowano do odpowiednich grup uwzględniając ich strukturę. Związki do bazy zostały wybrane w oparciu o dane literaturowe. Ponadto w bazie zawarty został opis parametrów strukturalnych, takich jak typ czy długość łącznika oraz wykonano parametryzację wszystkich cząsteczek, otrzymując zoptymalizowane pola siłowe. Posłużyło to do przeprowadzenia badań *in silico* z wykorzystaniem dynamiki molekularnej w celu określenia sposobu oddziaływania związków z modelową błoną bakterii *Escherichia coli*. W ten sposób oceniono wpływ surfaktantów na lokalne zmiany parametrów strukturalnych, mechanicznych i dynamicznych błony po ich wbudowaniu. Przeprowadzona analiza pozwoliła na wytypowanie czterech najbardziej prawdopodobnych właściwości błony, których zmiany mogą odpowiadać działaniu przeciwbakteryjnemu cząsteczek z rodziny gemini. Na podstawie uzyskanych wyników wyselekcjonowano kilka typów surfaktantów, które wykazywały szczególnie silny wpływ na błony bakteryjne. Zaproponowane podejście teoretyczne do porównania skuteczności przeciwbakteryjnej surfaktantów typu gemini jest interesujące. Niemniej jednak, aby to systematyczne podejście miało istotne znaczenie biologiczne, powinno zostać potwierdzone eksperymentalnie.

W trzeciej z prac wchodzących w skład cyklu przedstawiono symulacje dynamiki molekularnej, zaproponowanego przez autorów modelu numerycznego błony komórkowej bakterii *Escherichia coli* i oceniono, w jaki sposób złożoność modelu numerycznego błony może wpływać na parametry strukturalne, mechaniczne i dynamiczne tej struktury. Podjęto się realizacji tej tematyki ponieważ wiele badań dotyczy oddziaływań między błoną bakteryjną i związkami przeciwdrobnoustrojowymi. Po dogłębnej analizie parametrów strukturalnych, dynamicznych oraz własności mechanicznych wykazano, że

złożoność i skład modelu błony bakteryjnej ma kluczowe znaczenie i tylko prawidłowe ich odwzorowanie umożliwi powiązanie wyników symulacji komputerowych z eksperymentem, a finalnie z odpowiednim efektem biologicznym.

W ostatniej z prac tworzących cykl Doktorant przedstawił autorskie narzędzie symulacyjne Diptool do badania interakcji między modelową błoną biologiczną oraz cząsteczkami surfaktantów gemini. Diptool został oparty w głównej mierze na oddziaływaniach dipolowych lipidów oraz związków przeciwbakteryjnych. Narzędzie pozwala na własne generowanie dowolnych błon poprzez zdefiniowanie wartości momentów dipolowych poszczególnych lipidów. Analogiczne podejście zastosowano w przypadku związków przeciwbakteryjnych. Największą zaletą narzędzia Diptool jest jego szybkość działania. Znane metody numeryczne np. dynamika molekularna, pozwala na ocenę potencjału przeciwbakteryjnego cząsteczek, aczkolwiek czas potrzebny na wygenerowanie wyników jest bardzo długi (ok. 14 dni dla jednej symulacji), podczas gdy obliczenia z użyciem autorskiego narzędzia przesiewowego zajmują kilka minut.

Pracę doktorską mgr. inż. Mateusza Rzyckiego przeczytałem z dużym zainteresowaniem. Błędy czy usterki edycyjne są nieliczne. Z obowiązku recenzenta poniżej wymieniam przykładowe z nich:

- str. 19 – zamiast „essays” powinno być „assays”,
- str. 25 – niewłaściwy podział na sylaby słowa oddziaływań,
- str. 25 – zamiast „wypływa na uodparnianie” powinno być wpływa na uodparnianie,
- str. 26 – niefortunne określenia: „dostarczono wgląd w molekularne oddziaływania” ,
- str. 26 – „oddziaływania OCT oraz CHX na błony” powinno być z błonami.

Podsumowując moją recenzję stwierdzam, że praca zawiera istotne elementy nowości naukowej: zaproponowano mechanizm selektywnego działania związków przeciwbakteryjnych stosowanych na szeroką skalę takich jak oktenidyna i chlorheksydyna. Przygotowano bazę cząsteczek gemini i zaproponowano ujednolicony numeryczny protokół badania tego typu związków o potencjalnym charakterze bakteriobójczym. Zaproponowano ulepszony i kompleksowy model błony bakterii *E. coli* do zastosowań numerycznych oraz



GDĄSKI
UNIwersytet
MEDYCZNY

 www.gumed.edu.pl

 58 349 11 11

 info@gumed.edu.pl

 ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a,
80-210 Gdańsk

opracowano autorskie narzędzie do szybkiej analizy potencjału przeciwbakteryjnego cząsteczek o strukturze gemini.

Z pełnym przekonaniem uznaję, że oceniana przeze mnie praca spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz wnoszę do Rady Dyscypliny Nauk Fizycznych o dopuszczenie mgr. inż. Mateusza Rzyckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Biorąc pod uwagę wartość wyników badań zawartych w recenzowanej pracy wnioskuję o jej wyróżnienie.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Chemii Nieorganicznej


prof. dr hab. Wojciech Kamysz