

Oponentský posudek na kandidátskou disertační práci Mgr. Petra Dobeše "Interakce proteinů s inhibitory: kvantověchemická studie"

Rozvoj výpočetní chemie a zvláště pak teoretických výpočetních metod v tomto oboru umožnil v posledním desetiletí jejich široké využití v biodisciplinách, jmenovitě v racionálním přístupu k návrhu léčiv a nízkomolekulárních ligandů testováním jejich účinnosti in silico. Předložená disertační práce je ve své podstatě reportem o aplikaci takovýchto metod rozvíjených na jednom z nejlepších teoretických pracovišť v České republice, které patří mezi špičkové laboratoře i v mezinárodním měřítku. Hledání obecné tzv. "scoring function" tedy teoreticky konstruované funkce pro porovnání afinit nízkomolekulárních ligandů a biomolekul in vitro a in silico, dospělo díky zmíněnému rozvoji výpočetních prostředků a metod do fáze, kdy se dá říci, že všechny veličiny kvantifikující takovou afinitu jsou v modelu zahrnuty. Tedy jak jeho entalpické, tak jeho entropické složky. Přesto se ukazuje, že univerzálnost takové funkce je stále mimo dosah současných modelů a přesnost s jakou jsou jednotlivé příspěvky kvantifikovány není zrovna uspokojující. Předložená práce je výmluvným důkazem komplexnosti celého problému, na druhou stranu však ukazuje směr ve kterém se stanovení takové funkce bude dale ubírat.

Předkládaná práce se týká interakce velmi důležité třídy enzymů – kináz s jejich inhibitory, modulujícími funkci, která souvisí s celou řadou závažných onemocnění a je proto velmi atraktivní jak z terapeutického tak obecného hlediska. Cílem práce je testování teoretických metod a jejich souhlasu s experimenty prováděnými in vitro, většinou porovnáním hodnot inhibiční konstanty K_i a teoreticky konstruované hodnoty interakční nebo Gibbsovy volné energie zmíněného procesu. Jak se ukazuje, velmi často pro kvalitativní odhad afinity nízkomolekulárních ligandů a biomolekul stačí přesná hodnota (ve smyslu kvantově-chemickém) interakční energie pro danou třídu biomolekul a jejich inhibitorů která vystihuje trend experimentálně stanovených inhibičních konstant. Rozšíření "scoring function" o solvatační a entropické příspěvky trpí nepřesností jejíž podstatou je hrubá aproximace těchto členů. V tom paradoxně vidím hlavní přínos této práce, neboť vymezuje oblast, kde se zpřesňování bude odehrávat.

Práce samotná je podaná formou autoreferátu s příloženými relevantními publikacemi autora, kde je ve dvou případech prvním autorem. To na jednu stranu ukazuje jeho zasvěcenost v oboru, na druhou stranu příliš obecná úvodní část neposkytuje prostor pro odhadnutí autorova názoru na studovanou problematiku. Práce trpí některými nepřesnostmi a někdy zavádějící zkratkovitostí související právě s malým rozsahem úvodní části. Jmenovitě – místo supersekundární se používá označení terciární, peptidová vazba leucinu 83 je nepřesný pojem, neboť není jasné jaká je druhá aminokyselina v této vazbě, není jasný pojem střední inhibiční koncentrace což souvisí s nejasným vymezením IC_{50} a K_i hodnot jako relevantních ukazatelů pro porovnání s teoreticky získanými výsledky ve formě interakční nebo Gibbsovy volné energie. Zavádějící je například pojem "zvýšení inhibiční konstanty až o jedno desetinné místo" což zřejmě mělo znamenat zvýšení o jeden řád stejně tak jako definice celkové interakční energie na str 13 kde není ani jasné v jaké aproximaci či modelu o této energii autor hovoří. Dále uvádím jen výčet pojmů a nepřesností které bych v disertační práci neočekával a mezi nimi jsou i otázky na které očekávám že autor při obhajobě zareaguje a uvede je na pravou míru.

Str 13. Pozitivně nabitá oblast se obávám není přesný pojem. Jde o elektronovou hustotu v aproximaci která závisí na použité metodě výpočtu elstat. potenciálu pro danou molekulu?

Str 15 „bylo však zjištěno že stačí aminokyseliny v okolí inhibitoru“, toto tvrzení je bez reference, prosím o diskusi či referenci.

Str 16 není diskutováno kde se nachází cyklin který byl v modelu odstraněn. Je doloženo, že to nemá žádný vliv na vazbu?

Str 26 opakuje se definice Gibbs free energy a souvislosti s K_i

Str 28 namodelované komplexy jak se zdá se nevystihovaly optimální geometrii systému, není jasné jak byla tato optimalizace provedena. Proím o vysvětlení

Str 29 přidáním entropického členu došlo ke zhoršení korelace – jak se projeví na úrovni popisu entropie nepřesnost ff ?

Str 30 jak se rozvoj Info technologií projeví na zpřesnění korelace?

Str 27 jak byly určeny chyby v interakční energii v grafu na str 27?

..

Přes uvedené námitky a otázky, které autor doufám při obhajobě zodpoví se domnívám, že práce splňuje všechna kritéria kladená na kandidátskou disertační práci a proto ji doporučuji k dalšímu řízení.

Praha 13.6.2011

Jiří Vondrášek