

Bírálat

Hetényi Csaba MTA doktori értekezéséről

Hetényi Csaba „Célpont-ligandum kölcsönhatások számítása” című MTA doktori értekezését az MTA Kémiai Osztálya Doktori Bizottságával egyeztetett módon rövidített értekezés formájában nyújtotta be. Ennek megfelelően maga az értekezés 29 oldal, amelyhez a jelölt csatolta az értekezés alapját képező 30 publikációt, melyek két évtizedes kutatómunka gyümölcset képezik. E publikációk túlnyomó többsége rangos nemzetközi tudományos folyóiratban (J. Am. Chem. Soc, J. Chem. Phys., J. Chem. Theory Comput., FEBS Letters, EMBO Rep., Int. J. Mol. Sci., stb) jelent meg, hivatkozottságuk igen magas. Mindezek alapján a rövidített értekezés olvasásához nagy várakozással fogtam hozzá Előljáróban le kell szögezmem, hogy e várakozásaim nem bizonyultak alaptalannak.

Maga a rövidített disszertáció – egy rövid bevezetést illetve kitekintést leszámítva – két fő részre tagolódik, melyek a célpont-ligandum kölcsönhatások számításának szerkezeti illetve energetikai aspektusait tárgyalják. A dolgozatot – a csatolt publikációk mellett – egy rövid megemlékezés, köszönetnyilvánítás, az értekezés alapját képező közlemények jegyzéke és egy 330 tételből álló irodalomjegyzék teszi teljessé. Maga a rövidített értekezés tetszetős, gondosan kiállított, bár – a műfaj jellegéből fakadóan is – igen tömören fogalmazott, ezért viszonylag nehezen olvasható írásmű, mely elenyésző számú hibát, elütést tartalmaz

A dolgozat szakmai értékelése kapcsán előljáróban meg szeretném jegyezni, hogy – tudván hogy a szerző munkája, kutatási területe szorosan kapcsolódik adott ipari (gyógyszeripari) problémák megoldására irányuló alkalmazott kutatásokhoz – nagy örömmre szolgált a disszertáció tisztán alapkutató jellege, mely mögül azonban folyamatosan felsejlik a tárgyalt tudományos probléma gyakorlati jelentősége is.

A rövidített disszertáció fő részét az említett két fejezet (második ill. harmadik) teszi ki. Mindkettő további két részre tagolódik (bár a második fejezet esetén az első rész két alfejezetet foglal magában). A fejezetek első részében az adott téma irodalmi előzményeit, kutatási motivációját illetve a legfontosabb módszertani tudnivalókat foglalja össze a jelölt, míg a második rész mindkét esetben a saját eredményeket ismerteti. A két fő fejezet közül érzésem szerint az első (a dolgozat számozása szerinti 2.) a hangsúlyosabb. Erre utal nemcsak a lényegesen hosszabb terjedeleme (17 oldal szemben a 3. fejezet 9 oldalas terjedelmével), a mögöttes publikációk nagyobb száma (19 szemben a 3. fejezet mögötti 11 publikációval), hanem az a tény is, hogy az e fejezet alapját képező publikációk összességében lényegesen

frissebbek mint a harmadik fejezet alapját képezők, így alapvetően ez a rész reprezentálja a jelölt kutatásának jelenlegi irányát.

A szerkezeti kérdéseket tárgyaló 2. fejezet irodalmi része két alfejezetre tagolódik: a 2.1 alfejezet a kísérletes szerkezetmeghatározó módszerek korlátait tárgyalja, míg a 2.2 alfejezet a felhasznált elméleti megközelítéseket (molekulamechanika, erőkterek, külön részt szentelve a lehetséges vízmodelleknek) ismerteti. Noha a 2.1 alfejezet korrekt módon ismerteti az ide vonatkozó kísérleti módszerek korlátait, egy ilyen témájú és hosszúságú (a teljes rövidített dolgozat terjedelmének mintegy 10 százalékát kitevő) alfejezet részét itt visszásnak érzem. Úgy gondolom, hogy egy elméleti-számítógépes jellegű munka tárgyalásakor inkább használt, elméleti módszerek korlátainak részletesebb diszkussziójára lett volna szükség, mintsem a használt megközelítést kiegészítő, ám a jelölt által nem művelt (vagy legalábbis a disszertációban nem említett) módszerekéinek. Noha érteni vélem a jelölt motivációját (bemutatni hogy miért van szükség a számítógépes szimulációs megközelítésre, miért nem elegendő a pusztán kísérleti vizsgálat a kérdéses rendszerek és problémák esetében), ezzel a tárgyalással akkor sem tudok egyetérteni. A 2.2 alfejezet a molekulamechanika módszerének alapjait tárgyalja (a teljes potenciális energia számítása páronként additív kölcsönhatások esetén, megemlítve néhány népszerű erőteret (AMBER, CHARMM, OPLS) illetve az oldószer szerepét betöltő víz leírásának néhány lehetőségét (dielektromos állandón keresztül, Poisson-Boltzmann egyenleten keresztül, illetve explicit módon). Ebből az alfejezetből hiányoltam a kölcsönhatások hosszútávú járulékát figyelembe venni képes módszerek (reakciótér-korrekción, Ewald-összegzés, PME módszer) illetve a periodikus határfeltételek tárgyalását.

A szerkezeti vizsgálatokkal foglalkozó 2.3. alfejezet esetében ki kell emelni, hogy itt kerülnek bemutatásra mindazok a módszerek, melyek kifejlesztésében a jelölt is részt vett (Wrap'n Shake, HydroDock, MobyWat. Ezek a módszerek a bemutatott munka alapvető fontosságú részét képezik. Kár, hogy ezeknek a módszereknek a tárgyalásakor a jelölt sokszor kevésbé releváns dolgokat említ, miközben a rövidített disszertációban nem ismerteti az olvasóval a módszer lényegét. Tipikus példa erre a MobyWat módszer ismertetése a dolgozat 21. oldalán. Ebből megtudhatjuk, hogy a módszer milyen szimulációs programcsomaghoz készült (bár más csomagból származó szerkezeteket is tud kezelni), milyen formátumú file-okat olvas (.xtc), mi az explicit vízmodell használatának előnye, a módszer lényegéről azonban nagyjából annyi hangzik el hogy az "többféle klaszterező algoritmust is alkalmaz". Ezt feltétlenül a dolgozat egy kihagyott lehetőségének érzem.

Maga a 2.3. alfejezet tovább tagolódik három részre, mindhárom alülféjezet mögött 6-7 publikáció áll. A 2.3.1 alfejezet a kis molekulás ligandumok kötési módjának, illetve az esetleges több dokkoló hely mindegyikének felderítésével foglalkozik – itt említi meg a szerző a saját fejlesztésű, rendkívül tetszetős Wrap'n Shake módszert is. A dokkolás problémáját jelentősen komplikálja, ha a ligandum maga is egy nagy konformációs lehetőségekkel rendelkező oligopeptid – e kérdéskört járja körbe a 2.3.2. alfejezet. Végül a 2.3.3. alfejezet a víz dokkolásban betöltött szerepével foglalkozik, itt szó esik az implicit vízmodellek ezzel kapcsolatos előnyeiről és korlátairól, az explicit vízmodellek használatával felmerülő problémákról illetve ezek lehetséges megoldásáról a szerző által is jegyzett MobyWat módszer segítségével.

A 3. fejezetben a célpont-ligandum kölcsönhatások energetikai vonatkozásait tárgyalja a jelölt. A fejezet első része ismét egy irodalmi kitekintés, mely a ligandum célponthoz való kötődését kísérő energia-, entrópia- és szabadenergia változás számításának egyes aspektusait (ligandum méretétől való függés, kvantummechanikai megközelítés lehetőségei, stb.) taglalja. Meg kell jegyezni, örömmre szolgál, hogy – ellentétben a 2. fejezettel – itt a használt számítási módszerek korlátairól tesz említést a jelölt. A fejezet második része, mely a 2.3. alfejezethez hasonlóan szintén három részre tagolódik, az e területen elért saját eredményeket ismerteti. Meg kell említeni, hogy az itt ismertett eredmények a jelölt egy-két évtizeddel korábbi munkájának gyümölcsei: a fejezet alapját képező 11 publikációból öt született 2010 előtt, míg 2020 után csak egy. Mindez azt sejteti, hogy a jelölt kutatási érdeklődése az utóbbi időben más irányba (például a 2. fejezetben ismertett szerkezeti kérdések felé) fordult. Mindennek fényében nem meglepő az energetikai témájú fejezet dolgozaton belüli kisebb súlya, és az eredményeket ismertető 3.2. alfejezet viszonylagos rövidege.

A 3.2.1. alfejezetben az implicit vízmodell jelenléte mellett végzett számításait ismerteti a jelölt. Különösen tetszetősnek találtam itt a molekuláris kölcsönhatási ujjlenyomat (MIF) mátrix meghatározásával kapcsolatos eredményeket, melyek számomra, az alap kutatási eredmények gyakorlati, alkalmazott kutatásokban való hasznosításának terén járatlan olvasó számára is egyértelműen kapcsolódnak a gyógyszerfejlesztés aktuális problémáihoz. A következő, 3.2.2. alfejezet az explicit vízmodellek használata során felmerülő problémákat és azok megoldását (QM/MM megközelítés, fragmentálásos megközelítés). Végezetül a 3.2.3 alfejezet a kötődést jellemző extenzív termodinamikai mennyiségek, elsősorban a kötődési szabadenergia ligandum méretétől való függését, illetve e méretfüggés lehetséges

eliminációját (azaz a kötődést jellemző intenzív jellegű mennyiségek bevezetésének lehetőségét) tárgyalja.

Összefoglalva, Hetényi Csaba rövidített disszertációja mind tartalmi, mind pedig formai szempontból eleget tesz az MTA doktora fokozat megszerzésével szemben támasztott követelményeknek. A dolgozat téziseit új tudományos eredményeknek fogadom el. Mindezek alapján az alább ismertetendő kérdéseimre adott válaszoktól függetlenül javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsátását, és sikeres védelem esetén az MTA Doktora fokozat odaítélését.

A dolgozathoz az alábbi kérdéseket és megjegyzéseket fűzöm.

1. A 13. oldalon ezt írja a jelölt: *”Az explicit vízmodellek [...] a vízmolekula valós geometriáját és töltésviszonyait atomi szinten reprezentálják.”* Ez az állítás így semmiképpen nem igaz, különös tekintettel a három vagy négy kölcsönhatási helyet használó modellekre (SPC, SPC/E, TIP4P, TIP4P/2005 stb.), melyek a negatív parciális töltést az oxigén atomra vagy annak közelébe (tőle a H atomok felé eltolódva) helyezik, illetve nem reprezentálják a H-kötések lehetséges irányának tetraéderes elrendeződését sem. E modellek sikere egyebek között a H-kötéses szerkezet leírásában annak tudható be, hogy a modellek egyszerre reprodukálják a dipólus- és kvadrupólusmomentumot, valamint a molekula térigényét (szterikus taszítás), és e faktorok összjátéka hozza létre kis számításigény mellett a vízszerű szerkezetet.

2. A 2.3.1. alfejezetben említi a szerző a másodlagos vagy többszörös, allosztérikus kötőhelyek felderítésének fontosságát (ennek érdekében dolgozták ki a Wrap’n Shake algoritmust). E lehetséges kötőhelyek megtalálását szokta energetikai analízis követni? Az egyes helyekhez tartozó kötődési szabadenergiák értéke a ligandum kötőhelyek közötti megoszlását is megadná. Vagy ez bevett gyakorlat, aminek ismertetésére a rövidített dolgozat szűkös keretei között nem volt mód?

3. A Wrap’n Shake algoritmus be tudja csomagolni a célpont molekulát hézagmentesen, de nem feltétlenül fizikailag helyesen, hiszen az elektrosztatikus kölcsönhatás ilyenkor ’ki vannak kapcsolva’. Nem probléma ez a ’lerázási’ fázisnál? Kérem a jelöltet hogy ismertesse kicsit bővebben az algoritmus lényegét.

4. Fizikailag hasonló (bár kémiaiilag különböző) problémára, a fehérjék hidrátburkához tartozó vízmolekulák közül az erősen kötődőek (illetve a fehérjefelszín erős vízmegkötő képességgel bíró helyeinek) felderítésére javasolta Guarnieri és Mezei a kémiai potenciállal végzett simulated annealing jellegű számítást (JACS 1996, 118, 8493), amikor a teljesen hidratált fehérjét tartalmazó rendszerben a víz kémiai potenciálját folyamatos csökkentjük a szimuláció során. Az eljárás megmutatja hogy a fehérjefelszín mely részéről milyen könnyen távozik a víz, és egyúttal azt is hogy hol vannak a legerősebb vízkötő helyek. Víz helyett az adott, vizsgált ligandumot használva (pl. Wrap'n Shake-vel becsomagolt fehérjéből kiindulva) ez az algoritmus nem csak a lehetséges kötőhelyek megtalálására, hanem azok kötődési szabadenergia szerinti sorba állítására és a ligandum megoszlásának meghatározására is alkalmasnak tűnik. Vizsgálta a jelölt a két módszer összehasonlítását? Ha igen, milyen előnyeit és hátrányait tapasztalta az egyes módszereknek? Ha nem, mire számít az előnyök és hátrányok tekintetében?

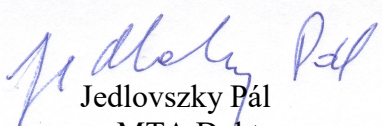
5. Hasonló kérdés: a lehetséges ortosztérikus és allostérikus kötőhely megtalálására és energetikai (kötődési szabadenergia szerinti) összehasonlítására igen alkalmasnak tűnik a metadinamika módszere. Mi lehet az ilyen számítások előnye és hátránya? Használják az irodalomban a metadinamika módszerét ilyen célra?

6. Mit ért a szerző "TIP3P feletti" vízmodelleken (23. oldal)?

7. Azt írja a jelölt a 3.1. alfejezetben (25. oldal): " [...] a ligandum entropikus optimalizálása [...] könnyebbnek tűnik, mint az entalpikus optimalizálás. " Mi lehet ennek az oka?

8. A 27. oldalon a következőket írja a szerző: "Az erőter parametrizálás problémája a QM esetben nem lép fel [...]" majd a következő mondatban "A megfelelő vízmodell megtalálása a QM alapú számítások általános problémája [...]". Tekintettel arra hogy a vízmodell paraméterei az erőter (potenciál modell) részét épezik, kérem a jelöltet, hogy a két állítás közötti (véltetőleg csak látszólagos) ellentmondást oldja fel.

Eger, 2025 február 5.



Jedlovszky Pál
az MTA Doktora