

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор - начальник Управления научной
политики и организации научных
исследований МГУ имени Ломоносова



профессор Федянин А.А..

11 октября 2017 года

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Попова Александра Викторовича «МОЛЕКУЛЯРНО-ДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ 8-ОКСОГУАНИН-ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗ БАКТЕРИЙ И ЧЕЛОВЕКА», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 — биохимия.

Диссертационная работа Попова Александра Викторовича посвящена выявлению структурных факторов влияющих на активность и субстратную специфичность 8-оксогуанин-ДНК- гликозилаз бактерий и человека с применением вычислительных подходов.

Актуальность проблемы очевидна и обусловлена высокой значимостью систем репарации окислительных повреждений ДНК при исследовании процессов старения и канцерогенеза. ДНК- гликозилазы могут специфичны как к различным окисленным гетероциклическим основаниям, так и к их окружению в ДНК. Полное понимание механизмов функционирования таких ферментов не возможно без применения методов компьютерного моделирования.

Практическая значимость работы Попова А.В. заключается в том, что автором на основе фундаментальных исследований конформационной динамики структуры 8-оксогуанин-ДНК- гликозилаз некоторых бактерий и человека была получена релевантная информация о различных стадиях ферментативного катализа, осуществляемого этими ферментами. Это знание можно применить для рационального изменения ферментов для применения в области биомедицины.

Актуальность работы обусловлена тем, что автор смог описать поведение каталитически важных аминокислот в активном центре фермента Fpg и получить новые данные о структурных основах субстратной специфичности 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаз. Исследование влияния набора аминокислотных замен в активном центре 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы на активность фермента в отношении различных субстратов расширяет понимание механизма фермента.

Работа состоит из четырёх глав, заключения и выводов. Она изложена на 145 страницах текста, включая список литературы с 187 источниками, 36 рисунков и 7 таблиц. Формулировка проблемы исследования приведена автором во введении. Там же приведены цель и основные задачи диссертации. Во второй главе приведён обзор литературы, в котором обсуждены современные задачи и проблемы окислительных повреждений и репарации ДНК, основы моделирования биополимеров, систематизированы данные и проведён анализ об исследованиях ДНК-гликозилаз вычислительными методами.

В третьей главе приведены материалы и методы используемые в работе.

В четвертой главе изложены результаты работы и их обсуждение. Часть 4.1 посвящена разработке программных средств для анализа данных получаемых в ходе вычислительных экспериментов. Глава 4.2 знакомит читателя с исследованием структуры и активности прокариотической ДНК-гликозилазы Fpg. Автор приводит данные об корреляции активности и степени ионизации остатков в каталитическом центре фермента. Автор приводит данные об высокой вероятности состояния фермента, где остаток GLU2 находится в протонированном состоянии, что согласуется с экспериментальными результатами. Так же в этой главе приведено исследование об специфичности Fpg к основаниям близким к поврежденному и исследованию роли воды и образуемых ею сетью водородных связей. Глава 4.3 посвящена подобному исследованию для 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы человека и влиянию мутаций на активность фермента. Хочется отметить данные об данных по сравнению субстрата с 8-оксогуанином и апуриновой ДНК, что позволило сравнить влияние мутаций на обе стадии работы фермента. Надо отметить, что вычислительные эксперименты сопровождаются комплементарными экспериментами *in vitro*.

Работа Попова А.В. отличается *существенной научной новизной*. В ходе работы были получены новые данные о структурных основах субстратной специфичности 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаз и предложены программные средства для анализа результатов компьютерного моделирования молекулярной динамики. Основные результаты по теме диссертации изложены в 4 печатных изданиях все из которых изданы в журналах, рекомендованных ВАК; и в 8 тезисах

докладов на российских и международных конференциях.

Общая оценка работы. Диссертация Попова А.В. является завершённым научным исследованием, посвящённым исследованию структурных основ активности и субстратной специфичности 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаз. Это исследование использует компьютерное моделирование комплекса модифицированной ДНК и фермента, так как детальная информация об их структуре, динамике и механизме действия является крайне востребованной как с фундаментальной, так и с прикладной точек зрения. Экспериментальные данные согласующиеся с вычислениями увеличивают ценность представленных данных.

Несмотря на высокий уровень научной работы необходимо отметить следующие замечания:

- 1) Для моделирования в терминах молекулярной механики автор использует силовое поле локальной разработки с использованием параметров из набора parm99. Необходимо отметить, что достаточно устаревший набор параметров, что и подтверждается цитированием статей до 2000 года при описании силового поля.
- 2) Из описания протокола моделирования молекулярной динамики становится не очевиден тип используемого термостата.
- 3) Автор в ряде систем использовал для атомов белка “искусственные ограничения потенциала силового поля” в виде гармонических потенциалов, но не потрудился объяснить необходимость их применения.
- 4) На рисунке 13 представлено изменение среднеквадратичного отклонения во время траектории Frg как с “учетом водородных связей” так и без учета. В тексте говорится, что учет водородных связей приводит к значениям СКО около 2 ангстрем, а на рисунке этот вариант расчета имеет СКО более 4 ангстрем.
- 5) Иллюстрация на рисунке 18 представляет популяции значений дистанций в каталитическом центре. Точки соединены линиями, такое отображение смущает читателя так, как он начинает искать начало линии, но это не возможно из-за обилия точек в родной области пространства.
- 6) На рисунке 25, об кластерах водных мостиков, следовало бы привести конформации с атомами водорода.

Значимость полученных результатов для биологической науки. Полученные автором результаты будут полезны не только исследователям, занимающимся структурной биологией, но и специалистам в других областях – молекулярной биофизике, медицинской химии,

биоинформатике. Подобные лаборатории и группы существуют в ВУЗах и научно-исследовательских организациях в ряде естественнонаучных факультетов МГУ имени М.В. Ломоносова, СПбГУ и др., в Институте органической химии имени Н.Д. Зелинского РАН. Данные об работе компонентов системы репарации ДНК могут быть использованы в Институте биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, в научных учреждениях РАН и др.

Материал диссертационной работы может быть использован также и в образовательных учреждениях, где готовят специалистов по биоинформатике, биофизике, фармакологии.

Заключение. Сделанные замечания не умаляют достоинств данной работы, которая, несомненно, представляет теоретический и практический интерес. Работа Попова А.В. выполнена на высоком научном уровне с использованием комплекса подходов молекулярного моделирования и структурной биологии и вносит существенный вклад в развитие биохимии. Работа Попова А.В. отвечает требованиям к докторским диссертациям и соответствует пункту 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. № 842. Автор работы Попов А.В. заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 — биохимия.

Отзыв рассмотрен и одобрен на заседании совместного коллоквиума факультета биоинженерии и биоинформатики и отдела химии и биохимии нуклеопротеидов НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова, протокол №2 от «3» октября 2017 года

Заместитель декана по научной работе
факультета биоинженерии и биоинформатики
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.
к.б.н.



Фенюк Б.А.

Отзыв составлен доцентом факультета биоинженерии и биоинформатики
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.
д.х.н.



Головин А.В.