

ОТЗЫВ

**официального оппонента о диссертации Попова Александра Викторовича
«Молекулярно-динамический анализ субстратной специфичности 8-оксогуанин-
ДНК-гликозилаз бактерий и человека»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.04 – биохимия**

Актуальность темы. Диссертационная работа посвящена исследованию субстратной специфичности некоторых ферментов-гликозилаз бактерий и человека, удаляющих из ДНК окислительные повреждения. Эти повреждения приводят к мутациям, которые, в свою очередь, ведут к различным патологическим процессам, включая канцерогенез и старение. Гликозилазы репарации окислительных повреждений, имеющиеся как у прокариот, так и у эукариот – это высокоспецифичные ферменты. Эта специфичность важна и эволюционно обусловлена, но её природа до сих пор не вполне ясна, так как существующие экспериментальные методы не позволяют в полной мере её охарактеризовать. Для исследования проблемы природы специфичности автор привлекает методы компьютерного моделирования, получившие широкое распространение в последнее десятилетие в дополнение к классическим энзимологическим методам. В рамках диссертационной работы Поповым А. В. разработаны новые инструменты анализа, а именно программные средства подготовки молекулярно-динамических экспериментов и анализа полученных результатов. Полученные результаты объясняют некоторые аспекты специфичности в рамках концепции пластичности активного центра ферментов. Некоторые результаты получили и экспериментальное подтверждение в экспериментах по стационарной кинетике. Они имеют не только фундаментальное научное значение, но также могут быть использованы в практических приложениях, таких как рациональный дизайн ферментов и поиск ингибиторов для борьбы с онкозаболеваниями. Всё это позволяет

утверждать, что научная проблема, сформулированная и решённая в рамках диссертационной работы, является важной и актуальной.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Автором рассмотрены и критически проанализированы известные теоретические и практические положения по данной тематике, имеющиеся в современной литературе. Список цитированной литературы содержит 186 источников. Диссертант достаточно корректно использует известные методы обоснования полученных научных результатов, выводов и рекомендаций. Результаты и выводы достаточно обоснованы, достоверны и опираются на надёжную теоретическую и экспериментальную базу.

Оценка новизны и достоверности. В рамках диссертационной работы разработаны новые программные пакеты GUI-BioPASED и MDTRA, не имевшие прямых аналогов на момент публикации. Созданы некоторые новые версии известных алгоритмов, например, массивно-параллельный алгоритм Шрейка-Рапли для определения поверхности биополимера, доступной растворителю, адаптированный для графических процессоров. Новые программные пакеты и алгоритмы представлены и обсуждены на российских и международных конференциях, программа MDTRA опубликована в высокорейтинговом зарубежном рецензируемом научном журнале «Journal of Computational Chemistry», а программа GUI-BioPASED – в высокорейтинговом российском рецензируемом научном журнале «Молекулярная биология». Используемые классические биохимические методы стационарной кинетики также не вызывают сомнений в достоверности. Основные положения диссертации нашли отражение в четырёх научных статьях автора, в том числе трёх – опубликованных в зарубежных научных журналах, а также нескольких сборниках научных конференций. Все выводы представляются хорошо обоснованными, их новизна и достоверность также не вызывают сомнений.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Полученные данные о субстратной специфичности некоторых гликозилаз репарации окислительных повреждений имеют несомненное научное значение. Используемые методы могут быть обобщены на другие биополимеры и их комплексы. Помимо теоретического, диссертационная работа имеет и прикладное значение. Разработанные инструменты применяются не только в институте ИХБФМ СО РАН по месту работы соискателя, но и независимыми исследователями в некоторых зарубежных научных учреждениях (например, в Испании и Чехии).

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Результаты и выводы диссертации могут быть использованы для дальнейшего анализа субстратной специфичности ферментов эксцизионной репарации оснований. Полученные новые данные вместе с разработанными методами и программными средствами можно применить и в других областях биохимических исследований. В частности, выявление структурных детерминант субстратной специфичности, подобных описанным в диссертационной работе, может помочь при создании ферментов с изменённым набором субстратов, что может быть важно для нужд трансляционной медицины. А их «выключение» поможет осуществить селективную инактивацию ферментов репарации как потенциальных терапевтических мишеней при борьбе с онкозаболеваниями. Также Попову А. В. рекомендуется развивать программные средства анализа молекулярно-динамических траекторий в направлении увеличения охвата потенциальной аудитории этих инструментов.

Замечания по диссертационной работе в целом. К работе имеется ряд замечаний, которые, впрочем, не влияют на основные теоретические и практические результаты диссертации и носят в большей степени рекомендательный характер.

1) В разделе «2.2.2.4.3. Увеличенный шаг интегрирования» сказано, что «Существуют алгоритмы повышения стабильности при увеличенной длине шага,

которые стабилизируют длины водородных связей и таким образом приводят к снижению наиболее быстрых колебаний системы.»

Возможно, соискатель допустил не точность в формулировке, поскольку в данном подходе рассматриваются не водородные связи, а ковалентные связи с водородом.

2) В разделе «3.1. Комплекс программ моделирования биополимеров BISON» сказано, что «Практика применения коммерчески доступных программных комплексов, показывает, что их применение к нестандартным биополимерам, т.е. биополимерам, содержащим неканонические аминокислотные остатки или нуклеотиды, затруднительно.» Из дальнейшего текста не совсем понятно, как эта проблема решена в BioPASED. Возможно соискателю следовало уделить больше места в описании пакета BioPASED решению данной проблемы. Также могут быть интересны подходы других некоммерческих продуктов, применяемые для ее решения. Например, силовые поля OPLS в Schrodinger/Desmond вполне неплохо справляются с большинством нестандартных остатков. Соискателю также можно рекомендовать использовать FAMBE и FAMBEpH, которые входят в программный пакет BISON, для осуществления численных оценок энергии взаимодействия белок-ДНК.

4) В разделе «3.2.2. Оптимизация энергии и молекулярная динамика» сказано, что «параметры силового поля для неканонических аминокислотных остатков (заряженные остатки пролина и цистеина, нейтральные остатки лизина, глутаминовой и аспарагиновой кислоты) и иона цинка были предоставлены Воробьевым Ю. Н.»

Краткое пояснение как они были получены в работах Воробьева Ю. Н. позволило бы лучше понять материал в отсутствии ссылок на эти работы.

5) В тексте диссертации иногда встречаются не совсем определённые формулировки, например, «Зависимость плотности воды от температуры не описывается хорошо ни одной моделью, кроме, быть может, TIP5P.» Отсюда не ясно, решается или нет данная проблема в модели TIP5P.

Заключение. Диссертационная работа Попова А. В. является законченным научным трудом на актуальную тему, выполненным на высоком научно-исследовательском уровне. Результаты изложены чётко и ясно, выводы обоснованы и подтверждены расчётными и экспериментальными данными. Анализ литературы по тематике представляется достаточно тщательным. Диссертация грамотно написана и аккуратно оформлена, присутствует достаточное число пояснительных рисунков, схем и таблиц. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации. По актуальности поставленных задач, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертационная работа, представленная соискателем Поповым Александром Викторовичем, полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а именно созданы новые алгоритмы и компьютерные программы для комплексного анализа результатов молекулярной динамики, имеющие высокую прикладную ценность, с использованием которых проведено глубокое научное исследование активности и субстратной специфичности 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаз бактерий и человека, позволившее выявить новые закономерности их структурно-функциональной организации, включая оптимальную для катализа пространственную конфигурацию реагирующих групп для природного субстрата, идентификацию сайтов прочного связывания молекул воды, механизмы действия мутаций (C253I, C253L, Q315W) в активном центре 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы OGG1 человека, затрагивающие деформацию активного центра, а не изменения в позиционировании субстратного нуклеотида. Попов Александр

Викторович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент,
кандидат биологических наук,
доцент,
ведущий научный сотрудник
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики СО РАН



/В.А. Иванисенко/

Иванисенко Владимир Александрович
630090, проспект акад. Лаврентьева, 10, Новосибирск
Тел. (383) 3634963
salix@bionet.nsc.ru

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

К. б. н, доцент, ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией компьютерной протеомики.

Подпись Иванисенко Владимира Александровича заверяю

Ученый секретарь к.б.н. Орлова Г.В.

