

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Залевского Артура Олеговича «Атомистический механизм катион-зависимой активации тромбина», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика

Актуальность темы.

Успехи последних лет в различных областях биологии во многом связаны с активным внедрением методов компьютерного моделирования для анализа и предсказания особенностей протекания ферментативных реакций, взаимодействия молекул, регуляции функционирования белков и др. Особенно это относится к вопросам, которые экспериментальными методами трудно или (в настоящее время) невозможно решить. В этих случаях компьютерное моделирование представляется крайне важным и часто определяющим в установлении молекулярных механизмов. Работа Залевского А.О. представляет собой компиляцию двух направлений: разработку компьютерных методов моделирования и изучение молекулярных процессов протекания в биологических системах. В частности, изучения молекулярного механизма аллостерической регуляции активности фармакологически значимого белка тромбина. Поэтому актуальность диссертационной работы Залевского Артура Олеговича «Атомистический механизм катион-зависимой активации тромбина» не вызывает сомнений.

Достоверность и новизна результатов и выводов.

Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием современных методов молекулярного моделирования и кванто-химических расчетов. В рамках выполнения работы автором были созданы программы по молекулярному докингу пептидов в белки, объединению программ по молекулярной динамике и кванто-химическим расчетам. Ряд предсказаний

моделирования были проверены в экспериментах. Исходные коды программ опубликованы. Была предложена модель аллостерической регуляции активности тромбина ионами натрия. Выводы соответствуют изложенным в диссертации результатам.

Ценность для науки и практики.

Автором предложена модель аллостерической регуляции активности тромбина ионами натрия посредством передачи сигнала от аллостерического до активного центра посредством цепочки молекул воды, связанными друг с другом водородными связями. Показано, что в переход от медленной формы тромбина происходит за счет разрыва водородной связи между каталитическим серином и другой аминокислотой, на наличие которой ранее не обращали внимание. Разработанные программные средства для моделирования КМ/ММ динамики, кластеризации белков и пептидного докинга могут быть успешно применены для исследований других белков и поиску новых биологически активных соединений.

Оценка содержания.

Диссертация написана по стандартной схеме и состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, заключение, список литературы и приложения. Работа Залевского А.О. изложена на 125 страницах, содержит 32 рисунка и 5 таблиц. Список литературы включает 145 источника.

Введение написано в достаточно четкой и полной форме, знакомит читателя с особенностями функционирования тромбина, ставит цель работы и формулирует основные результаты работы.

Обзор литературы состоит из четырех разделов. В первом разделе приведены основные данные о структуре, ферментативной активности и катион-зависимой активации тромбина. Второй раздел обзора посвящен методу кластеризации, метрикам и алгоритмам кластеризации. Третий раздел описывает основы гибридных методов кванто-механического/молекулярно-механического

моделирования. Последний раздел посвящен проблеме субстратной специфичности и методам ее предсказания.

В главе *Материалы и методы* подробно описана подготовка пространственных структур тромбина, используемого метода кластеризации этих структур, проведение КМ/ММ моделирования, особенности и параметры для разных систем на основе разных КМ приближений, моделирование комплексов тромбин-пептид.

В главе *"Результаты"* изложены результаты собственных исследований и их интерпретация. Глава посвящена трем направлениям работы: кластеризации пространственных структур тромбина и выявлению особенностей их строения, моделированию с использованием метода КМ/ММ в разных вариациях передачи сигнала от аллостерического до активного центра и моделированию взаимодействия тромбина с субстратом и исследование субстратной специфичности фермента.

В главе *Обсуждение* обобщаются полученные результаты и анализируются полученные данные.

Выводы работы в полной мере соответствуют задачам, поставленным в работе.

В главе *Заключение* подчеркивается важная роль водородной связи каталитического серина с серином-214 для прехода тромбина из быстрой в медленную форму.

В конце работы имеется *приложение*, в которых приведены состав кластеров, полученных в ходе кластеризации структур тромбина.

Полученные результаты представляются ценными как для фундаментальной науки, так и для практического использования во многих научных коллективах, занимающихся проблемами механизма ферментативных реакций, аллостерической регуляции, поиску новых биологически активных соединений. Разработанные свободно-распространяемые программные продукты могут с успехом применяться для моделирования других белков и комплексов.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати.

Часть результатов диссертации опубликованы в научной печати, что подтверждается списком публикаций, приведенным в автореферате. По материалам диссертации опубликовано 5 работ, все в журналах рекомендованных ВАК, и в 4 тезисах. Автореферат диссертации отражает основные положения диссертации.

Положительно оценивая работу в целом, следует отметить ряд недостатков в работе:

1. Опубликованные работы в основном касаются методических аспектов работы, разработке программного обеспечения, используемого в работе, и в них недостаточно освещена основная тема работы.
2. Оценка возможности образования водородной связи проводили исключительно по расстоянию между донором и акцептором этой связи. Но возможность ее образование так же требует определенного угла между этими атомами, о чем в диссертации не упоминается. Представлялось бы более правильным хотя бы для водородной связи, образование которой по мнению автора определяет переключение тромбина между быстрой и медленной формой привести данные об углах и показать устойчивость этой водородной связи при молекулярной динамике.
3. Представляется не очень удачным компоновка полученных результатов. На мой взгляд более логичным представлялось бы разбиение результатов на две отдельные части: разработка программного обеспечения и исследования по тромбину. Иначе в повествование о тромбине неожиданно вклиниваются результаты по модернизации программного

обеспечения, оценка применимости которого проводилась на других биологических объектах.

4. Не очень удачным представляется формулировка ряда выводов работы:

А) первый вывод сформулирован так, что можно подумать, что только новая реализация алгоритма что-то там позволяет.

Б) четвертый вывод: очень общая формулировка, проверка проводилась не на тромбине, что может ввести в заблуждение читателей.

В) главу *Заключение* можно было представить в виде основного вывода диссертации.

Г) большая часть работы посвящена разработке программного обеспечения, что не отражено в выводах.

5. Есть претензии к оформлению работы: в работе отсутствуют ссылки на рис. 14 и 15; подписи у части рисунков даны на английском языке; на ряде рисунков отсутствуют обозначение осей или размерность величин; иногда создается впечатление, что мысли бегут быстрее, чем пишется текст, поэтому читателю приходится догадываться, что хотел сказать автор.

Сделанные замечания не являются принципиальными, и не снижают положительной оценки работы.

Заключение: Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Артур Олегович Залевский заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
заведующий лабораторией структурной биоинформатики
отдела биоинформатики Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н. Ореховича»

Веселовский Александр Владимирович

11.12.2015

Контактные данные:

тел.: +7 (499) 245-07-68, e-mail: veselov@ibmh.msk.su

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.00.04 - Биохимия

Адрес места работы:

119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»

Лаборатория структурной биоинформатики, отдел биоинформатики

тел.: +7 (499) 245-07-68, e-mail: veselov@ibmh.msk.su

Подпись

заверяю
Ученый секретарь ИБМХ к.х.н.