

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Залевского Артура Олеговича
на тему: «Атомистический механизм катион-зависимой активации
тромбина»
по специальности 03.01.09 – «Математическая биология,
биоинформатика»

Диссертационное исследование Залевского Артура Олеговича посвящено исследованию взаимосвязи структура-функция центрального фермента гемостаза: тромбина. Современные достижения в области исследований структуры тромбина и его комплексов дают большое количество информации о статической структуре белка, но не представляют четкой картины деталей его функционирования. Одному из неясных аспектов механизма функционирования тромбина, его активации, посвящена работа.

Вынесенные на защиту положения адекватно отражают цель исследования и задачи сформулированные Залевским А. О.

Научную новизну работы составляют новые данные кластерного анализа всех кристаллографических структур тромбина человека.

Актуальность выбранной темы определяет потребность в создании новых ингибиторов тромбина, структуры которых можно рассчитать новыми многоуровневыми подходами моделирования.

Результаты, полученные Залевским А.О., позволили сформулировать гипотезу о наличии не наблюдавшейся ранее водородной связи в активном центре фермента. Были специально разработаны инструменты, использующие различные методы молекулярного моделирования: от мультиуровневого гибридного квантово-механического/ молекулярно-механического до пептидного докинга. Впервые удалось продемонстрировать наличие ингибирующей водородной связи Ser195 OG -

Ser214 O в активном центре фермента, отсутствующей в белковой системе в присутствии катиона натрия. Продemonстрирована роль сети молекул воды, соединенных водородными связями, в передаче структурирующего сигнала от натрий-связывающего кармана к активному центру фермента. Молекулярный докинг комбинаторных пептидных библиотек, продемонстрировал, что появление ингибирующей водородной связи также кардинальным образом изменяет профиль специфичности фермента.

Наличие ингибирующей водородной связи доказывается тремя путями:

- по кристаллическим расстояниям, полученным из рентгеноструктурных данных Ser195 OG - Ser214 O,
- с помощью моделирования структур в системе без катиона натрия,
- а также расчетов свободной энергии в данных районах в зависимости от наличия или отсутствия одновалентного катиона.

Выводы, сделанные в работе, обоснованы и опираются на результаты исследований, полученные А.О. Залевским. Теоретическая значимость работы подтверждается результатами моделирования структуры и динамики тромбина. Практическая значимость работы состоит в разработке новых вычислительных подходов к исследованию тонких процессов в биополимерах.

Диссертация построена по классической схеме: обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение. Текст представлен на 147 страницах, в 32 рисунках и в 4 таблицах. Автор использовал 145 литературных источников. Обзор дает достаточно полное описание программных подходов, которые могут использоваться в теоретических и расчетных работах. Чтение текста затруднено обилием англицизмов. В главе «Материалы и методы» А.О. Залевский детально разбирает кластеризацию структур тромбина, расчетные подходы, программное обеспечение, используемое в диссертации.

В главах «Результаты» и «Обсуждение» автор приводит результаты своих исследований. Так в разделе о кластеризации поднимает вопрос о

правомочности переноса подходов тестирования, проведенных с использованием фрагментов нуклеиновых кислот на белки. Справедливо ли переносить полученные ранее алгоритмы для нуклеиновых кислот на ферменты без множественного тестирования?

Раздел посвященный моделированию молекулярной динамики медленной формы тромбина недостаточно проработан. На странице 56 автор рассуждает о возможности формирования ранее неизвестной водородной связи с использованием гибридного метода КМ/ММ. В квантовую систему автор вводит часть системы, которая описывается с помощью квантово-механических подходов, в противовес остальной, описываемой с помощью уравнений классической механики. Также автор включает активный центр, катион-связывающий карман, соединяющая их сеть молекул воды, и фрагменты аминокислот, участвующих в их координации. Насколько это правомочно, нужно ли расширить состав квантовой системы, нужно ли учесть вторую сферу координации? Также при этом отсутствует визуализация пути передачи сигнала через молекулы воды.

К недочетам работы следует отнести ошибки на рисунках 8 и 9 в диссертации, а также на рисунке 2 в автореферате. Ser214 О ошибочно назван Ser204, есть ряд опечаток и неудачных выражений.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. 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 Залевский Артур Олегович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, доцент
старший научный сотрудник отдела хроматографического анализа
Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени
А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Спиридонова Вера Алексеевна

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена докторская диссертация:

03.01.02 — биофизика

03.01.03 – молекулярная биология

03.12.2019

/подпись/

Контактные данные:

тел.: 8 (495) 939-31-96, e-mail: spiridon@belozersky.msu.ru

Адрес места работы:

119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени
А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова»

