

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Галзитской Оксаны Валериановны
на диссертацию Измайлова Сергея Александровича
на тему: «Разработка и приложение алгоритмов молекулярной динамики и
спиновой динамики в исследованиях полипептидных цепей: от
неупорядоченных пептидов к кристаллическим белкам»,
представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических
наук по специальности 1.2.2 – Математическое моделирование, численные методы и
комплексы программ

Диссертационная работа посвящена актуальной теме изучения динамики белков и пептидов. Численному моделированию здесь отведена особая роль, т.к. детальные экспериментальные исследования динамики белков часто оказываются дороги по себестоимости проводимых работ и сопряжены с трудностями постановки эксперимента и его интерпретации, а зачастую и вовсе неосуществимы. Направления исследований, выбранные автором, позволяют, с одной стороны расширить круг задач, доступный для моделирования методом молекулярной динамики, а с другой стороны, пополнить список моделируемых наблюдаемых величин, что в свою очередь даёт возможность для уточнения рассматриваемых моделей.

Работа имеет традиционную структуру, состоит из введения, пяти глав, заключения и списка литературы. Текст изложен на русском и английском языках, занимая в совокупности 510 страниц. Список литературы содержит 418 ссылок.

Во введении автор обосновывает актуальность темы, формулирует основные результаты работы и обсуждает их научную новизну.

В первой главе диссертации рассматривается динамика разупорядоченного пептида и ее влияние на ^{15}N ЯМР релаксацию. Автором предложен новый полуколичественный подход для оценки вклада различных мод движения разупорядоченной пептидной цепи в спиновую релаксацию. Эта задача решается путем построения так называемых "псевдо-траекторий" из обычных траекторий молекулярной динамики. Исследована температурная зависимость и поведение рассматриваемой системы в различных моделях воды.

Глава 2 посвящена разработке и тестированию нового протокола молекулярной динамики, позволяющего моделировать образование дисульфидных связей без привлечения квантовой химии. Особое внимание уделено обзору химических реакций, ведущих к образованию дисульфидных связей; перечислены и обоснованы допущения, присутствующие в предлагаемой МД модели. Представленный протокол состоит из двух частей. В первой части программными средствами "отключается" потенциал отталкивания между атомами серы цистеиновых остатков, что даёт им возможность сближаться на расстояние, достаточное для формирования дисульфидной связи. Во второй части постепенно активируется потенциал, соответствующий дисульфидной связи, что позволяет избежать возмущения моделируемой системы. При этом исследуются структурные и динамические аспекты окислительного сворачивания, а что касается механизма химической реакции, то оказывается "вынесенным за скобки". Такой подход представляется в данных обстоятельствах вполне разумным, позволяя за короткое время получать осмысленные результаты, согласующиеся с экспериментом. Протокол был успешно протестирован на пептидном гормоне гуанилине, который был исследован как в изолированной форме, так и в составе прогормона прогуанилина. Полученное для гуанилина распределение по

изомерам находится в хорошем согласии с опубликованными экспериментальными результатами. Одна из траекторий сворачивания гуанилина в составе проугуанилина практически воспроизвела экспериментальную структуру, решенную методом ЯМР (108R). В частности, автором проведена валидация полученной модели на основе данных NOE, использованных при расчёте вышеназванной ЯМР структуры. Также в работе приводятся две модификации, разработанного автором, протокола МД моделирования, которые приводят к схожим результатам, что иллюстрирует устойчивость метода и воспроизводимость результатов.

В главе 3 показана возможность расчёта на основе данных МД моделирования ЭПР спектров нитроксильных меток белка. Предсказываемые таким образом спектры находятся практически в количественном согласии с экспериментальными данными. Таким образом, открывается возможность для изучения биомолекулярных систем с помощью МД моделирования, используя ЭПР спектры в качестве инструмента для валидации МД моделей. Это особенно полезно для тех систем, где не удастся получить структурные данные высокого разрешения и ЭПР спектроскопия играет роль одного из ключевых источников информации. С другой стороны, разработанная автором методика, открывает новые возможности для сравнения экспериментальных и расчётных данных, что, в свою очередь, может использоваться для уточнения параметров МД моделирования. В качестве модельной системы автором были использованы семь спин-меченых мутантов белка GB1. Прямое сравнение моделируемых и экспериментальных спектров обнаруживает отличное согласие для вариантов GB1 с меткой, экспонированной на растворитель. В работе также приведен алгоритм для масштабирования времени вращения белка с сохранением анизотропии движения. Алгоритм используется для моделирования спектров с повышенной/пониженной скоростью вращательной диффузии, включая в том числе и предельный случай порошкообразного твердотельного образца. ЭПР спектры моделируются при помощи разработанных автором программ для расчёта спиновой динамики на основе так называемого метода прямой пропагации спиновой матрицы плотности, а также с помощью теории Редфилда. Представлен анализ динамики торсионных углов в боковой цепи меченного остатка, который позволяет пересмотреть часть предположений, опубликованных ранее в литературе по данной тематике.

В четвертой главе предпринята попытка объяснить локальные конформационные перестройки и "покачивания" молекул белка в различных кристаллах, наблюдаемые в микросекундном масштабе времени с помощью твердотельного ЯМР. Автор также предпринял попытку найти взаимосвязь между этими двумя формами движения. В качестве модельной системы используются две кристаллические формы белка убиквитина, демонстрирующие разную амплитуду "покачивания" белка в кристалле и различные преобладающие локальные конформации на отдельных участках белковой цепи. В данной главе представлен большой объем моделирования кристаллов белка, включая моделирование кристаллов с точечными мутациями для определения влияния отдельных кристаллических контактов на колебания молекул в кристалле и локальную конформационную динамику. С помощью МД моделирования автору удалось продемонстрировать различие между двумя формами кристаллов и объяснить различные заселенности наблюдаемых локальных конформационных состояний. Однако при этом ему не удалось получить статистически достоверных свидетельств причинно-следственной связи между наблюдаемыми локальными конформационными переходами и "покачиваниями" белковых молекул в кристалле.

В главе 5 приводится обзор разработанных автором программ и библиотек для пакетного запуска молекулярной динамики, анализа траекторий МД и моделирования спиновой динамики ЭПР-активной метки.

Достоверность полученных результатов и выводов подтверждается перекрёстной проверкой численных результатов и их сравнением с экспериментальными данными, полученными коллегами автора или опубликованными в литературе. Результаты работы были представлены на 12 конференциях и опубликованы в хорошо известных научных журналах: Scientific Reports, Biophysical Journal и Nature Communications.

Вместе с этим имеются следующие замечания по работе:

- в русской версии диссертации встречается ряд англицизмов и опечаток;
 - в русской версии диссертации легенды рисунков выполнены на английском, что затрудняет восприятие материала;
 - глава 5 чрезмерно насыщена материалом для сравнительно небольшого объёма, практически отсутствует сравнение с имеющимися аналогами. Подробное описание библиотек и их достоинств помогло бы их распространению среди научного сообщества.
- Однако указанные недостатки имеют частный характер и не снижают общей научной ценности и практической значимости диссертации.

В целом работа представляет собой своего рода цикл исследований: в ней представлены новые методы, описана их апробация на большом объеме данных, обоснована их полезность и перспективность в плане дальнейшего практического применения. По моим впечатлениям, автор является вполне сложившимся молодым учёным, готовым к самостоятельной исследовательской работе в избранной им области.

Диссертация Измайлова Сергея Александровича на тему: «Разработка и приложение алгоритмов молекулярной динамики и спиновой динамики в исследованиях полипептидных цепей: от неупорядоченных пептидов к кристаллическим белкам» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 номер 6821/1 "О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете". Соискатель Измайлов Сергей Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по научной специальности 1.2.2 – Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Член диссертационного совета
доктор физико-математических наук,
главный научный сотрудник, руководитель
Лаборатории биоинформатических и протеомных
исследований Института белка РАН

О. В. Галзитская
14.09.2021



Галзитской О. В.