

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Селиванова Станислава Ивановича 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 Измайлова С.А. посвящена разработке и апробации новых алгоритмов молекулярной динамики (МД) и спиновой динамики (СД) на примерах исследования представителей нескольких различных типов полипептидных цепей. Поставленная задача и предложенные автором пути ее решения находятся в соответствии с основными тенденциями детального изучения поведения белковых молекул и их взаимодействий, что является одной из ключевых задач современной биологии и медицины. Это определяет актуальность и практическую значимость данного диссертационного исследования, научная новизна которого подробно и аргументированно доказывается автором на 261 (в русском варианте, в английском – 249) страницах диссертации, включающей 72 рисунка и 7 таблиц. Развитие методологии изучения сложных биомолекулярных систем на основе методов молекулярного моделирования (ММ), несомненно, является важной самостоятельной задачей современной науки, так как дает возможность независимого и адекватного описания таких систем путем объяснения природы их специфических взаимодействий и свойств, что помогает при создании новых лекарственных средств.

Сложность поставленной задачи и обсуждение недостатков известных методологических путей ее решения изложены автором в кратком введении, в котором также дано обоснование выбора наиболее важных и перспективных направлений развития методов МД. Среди них: тестирование предлагаемых моделей МД с помощью экспериментальных данных (валидация МД); расширение возможностей МД путем введения дополнительных алгоритмов, учитывающих возможные изменения свойств отдельных фрагментов исследуемой системы, или использования МД-моделирования в сочетании с квантово-химическими расчетами; и, наконец, приложение МД к новым для этого метода системам, таким как неупорядоченные белки и белковые кристаллы.

Таким образом, диссертационная работа Измайлова С.А. «лежит в русле современных направлений развития метода молекулярной динамики» и вносит заметный вклад в его развитие. Характерной ее особенностью является тематическое разнообразие и независимость каждой из 5-ти глав, для которых основным объединяющим фактором является использование и развитие методов математического моделирования динамических процессов, а разнообразие решаемых проблем и число магнитно-резонансных методов (ЯМР-спектроскопия и релаксация в растворе и твердом теле, ЭПР-спектроскопия и релаксация), использованных в работе для тестирования качества предлагаемых математических моделей, лишь подчеркивают широкие потенциальные возможности выбранного методологического подхода к решению сложнейших задач современной биологической науки. Необходимо отметить, что диссертация Измайлова С.А. является важной и неотъемлемой частью большой и планомерной работы в области использования ЯМР в биоорганической химии под руководством Н.Р. Скрынникова

(“Лаборатория биомолекулярного ЯМР СПбГУ”) и включает результаты исследований не только самого автора, но и его коллег. Поэтому оценка личного вклада автора по планированию, реализации и анализу полученных результатов, которая представлена во введении для каждой из пяти глав, дает исчерпывающее представление о характере, высоком качестве и большом объеме (некоторые приведенные в диссертации МД-траектории достигают нескольких месяцев непрерывного счета: см. Гл. 3, с. 112 и 5, с. 213) проделанной лично автором работы, которая полностью соответствует специальности 1.2.2. Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ. Прямым следствием тесной взаимосвязи между отдельными составляющими этой коллективной работы и ввиду ключевой роли, которую играет в исследованиях экспериментальная верификация данных МД моделирования, диссертация Измайлова С.А. включает в себя также подробное описание экспериментальных результатов.

Полученные автором результаты прошли глубокую и всестороннюю апробацию: в период 2015-2019 гг. они обсуждались на 12-ти конференциях и опубликованы в 4-х статьях, а также изложены в выпускной аспирантской работе “*Разработка и приложение алгоритмов молекулярной динамики и спиновой динамики в исследованиях полипептидных цепей*” (СПбГУ. 2020). Кроме того, эти результаты были использованы автором еще в 3-х публикациях, материалы которых не вошли в диссертацию.

Среди очевидных положительных качеств изложения материалов диссертационного исследования Измайлова С.А. нужно отметить их логичность и последовательность, сочетающихся со сжатостью и четкостью формулировок при описании обсуждаемых проблем и анализе полученных результатов. В каждой главе присутствует исчерпывающий литературный обзор с указанием возможных “подводных камней” и обоснованием как предлагаемого подхода по использованию МД-моделирования, так и выбора удобного для данной задачи измеряемого ЯМР-параметра. В итоге в тексте диссертации нет ничего случайного, а критический анализ полученных автором с помощью МД результатов не оставляет сомнений в надежности сделанных на их основе выводов.

Справедливость сделанной выше оценки высокого качества изложения материала диссертации и надежности выводов можно легко подтвердить на примере рассмотрения любой из ее глав. Попробуем кратко сделать это, отмечая лишь некоторые наиболее характерные или удачные примеры эффективного использования методов МД.

В первой главе, посвященной неупорядоченным пептидам, исследовано влияние различных динамических мод их движения на скорости ЯМР релаксации ядер ^{15}N . Ключевым моментом этого исследования, несомненно, является проверка степени согласия между ЯМР-экспериментом и результатами МД-моделирования с использованием четырех моделей воды на примере модельного пептида $\text{per}_\text{N}\text{H}_4$, имитирующего гибкую N-концевую часть гистона H4. Графическое сопоставление измеренных на ядрах ^{15}N скоростей продольной релаксации R_1 и поперечной кросс-корреляционной (DD/CSA) релаксации η при температурах 5, 25 и 55 °C с соответствующими результатами МД-расчетов 2мкс траекторий с использованием 4-х различных моделей воды (см. Рис. 1.1 на с. 20) однозначно свидетельствует о почти количественном их совпадении в случае использования более новой и адаптированной для неупорядоченных пептидов модели воды TIP4P-D. Использование других стандартных моделей воды приводит к значительной переоценке скоростей R_1 и η .

Хотелось бы отметить, что в этой части исследования, также как и при всех других измерениях, особое внимание уделялось минимизации возможных экспериментальных ошибок. В частности, чтобы минимизировать обмен с растворителем, который может отрицательно повлиять на измерения R_1 , образец был подготовлен с $pH = 4$, а для подавления в этом эксперименте эффектов кросс-корреляции использовались более длительные задержки и маломощные 180° импульсы. На такое “трепетное” отношение к точности экспериментальных данных указывает, например, высокая разрешающая способность представленного на Рис. 1.9 спектра 1H - ^{15}N HSQC модельного пептида per_NH_4 , который позволяет наблюдать практически все кросс-пики без их перекрывания. Исключение представляют лишь две пары G6/G13 и K5/K12, кросс-пики которых полностью совпадают, а также G7/G14 с частичным их перекрыванием. Таким образом, экспериментальные значения релаксационных характеристик могут быть получены с высокой точностью как минимум для 19-ти аминокислотных остатков. Высокое качество данного спектра особенно хорошо видно при его сопоставлении с опубликованным в работе Жоу и др. (см. ссылку [92]) таким же спектром, для которого в 2012 году была проведена первоначальная идентификация кросс-пигов для пептида из 15-ти остатков из N-концевого хвоста H4.

В результате было обнаружено, что МД-моделирование с использованием специальной модели воды TIP4P-D хорошо воспроизводит экспериментальные данные релаксации. После валидации данного подхода МД-траектории использовались для выяснения роли различных мод движения в спиновой релаксации. Таким образом, ключевым моментом в данном случае является правильный выбор модели воды, а затем уже идет применение МД-моделирования для анализа влияния различных динамических мод движения на скорости ЯМР-релаксации ядер ^{15}N .

Во второй главе диссертации Измайлова С.А. подробно описывается новый алгоритм МД, позволяющий моделировать окислительное свертывание пептидов (белков), сопровождаемое образованием дисульфидных мостиков. Основной целью этой части работы являлось создание алгоритма, который бы не уступал стандартному протоколу МД в отношении качества описания конформационной динамики пептида, и в то же время позволял бы воспроизводить процесс формирования дисульфидных связей. В качестве основного критерия успеха, также как и в первой главе, было выбрано хорошее согласие между предсказаниями МД и экспериментальными данными. В результате поиска среди возможных вариантов решения такой задачи была создана модификация алгоритма МД, которая позволяет моделировать процесс окислительного свертывания без наложения искусственных ограничений.

В основе предложенной модификации лежит отключение потенциала Леннарда-Джонса между парами атомов серы, принадлежащих остаткам реактивных цистеинов (CYR), и симуляция в этих условиях их сближения до расстояния 2.5 \AA . Эта процедура обеспечивает устранение отталкивания атомов серы двух цистеинов между собой и имитацию образования S-S связи, поскольку при достижении этого расстояния (2.5 \AA) запускается процедура формирования дисульфидного мостика. После моделирования процесса образования S-S связи, которое включает введение небольших искусственных ограничений на геометрические параметры дисульфидного мостика и последовательное их усиление для достижения известных “правильных” значений этих характеристик (равновесное расстояние $r_{S-S} = 2.038 \text{ \AA}$, валентный угол C-S-S = 103.7°), все введенные

ограничения удаляются и заменяются эквивалентными потенциалами, которые представляют дисульфидную связь в выбранном силовом поле. Например, чтобы отразить вновь образованный дисульфидный мостик, создается заново файл топологии, а два связанных остатка реактивных цистеинов C_{YR} преобразуются в соответствующий дисульфиду тип C_{YX}. Затем моделирование продолжается до тех пор, пока не будут сформированы все дисульфидные мостики.

Следует особо отметить, что реализованный автором алгоритм моделирования процесса окислительного свертывания осуществляется практически без потери скорости по сравнению с обычным запуском МД. Например, контроль расстояний сера-сера приводит к потере лишь 0.6 % скорости вычислений, а дополнительные временные затраты на создание дисульфидных связей не превышают времени записи нескольких наносекунд обычной траектории.

Этот алгоритм был успешно апробирован на примере исследования пептидного гормона гуанилин как в изолированной форме, так и в составе прогормона прогуанилин. Подробный анализ результатов МД-моделирования процессов окислительного сворачивания этих биомолекул и обнаруженное сходство значений рК_a цистеина во всех остатках позволили выдвинуть и подтвердить гипотезу о том, что, сделав некоторые упрощенные предположения о химии данного процесса, моделирование динамики пептида может быть отделено от анализа химической реакции (т.е. химия “выносится за скобки”). Таким образом, научная и практическая значимость предложенного и апробированного Измайловым С.А. алгоритма МД-моделирования заключается в том, что он открывает возможность исследовать механизм окислительного сворачивания в пептидах и белках и может оказаться чрезвычайно полезным инструментом в биомедицинских приложениях — например, в связи с изучением мутантных форм инсулина.

В третьей главе диссертации Измайлова С.А. на основе сопоставления данных МД-моделирования и спектроскопии ЭПР обсуждается исследование спектров нескольких спин-меченых вариантов небольшого (56 остатков) глобулярного белка GB1 с целью выявления взаимосвязи между динамическим поведением введенного в него нитроксильного зонда и изменением формы его триплетного ЭПР-сигнала. Хотя этот подход изучения биомолекул на основе “спиновой метки” хорошо известен, в данной работе была поставлена более сложная задача выявления особенностей и строгого количественного описания этой взаимосвязи, который бы позволил расширить круг решаемых структур, особенно среди неоднородных и/или высокодинамичных белковых систем, которые плохо поддаются исследованию известными традиционными методами.

В основе предложенного автором подхода лежит усовершенствование алгоритма для вычисления спектров ЭПР спин-меченого белка GB1 с помощью уравнений спиновой динамики Лиувилля - фон Неймана для электрон-ядерной спиновой системы и длинных МД траекторий. Следует отметить, что в данной работе (см. [3], 2020 г., Измайлов С.А. и др.) происхождение наблюдаемых форм спектральных линий выясняется на основе МД моделирования общей длиной в 180 мкс, которая на 1.5 порядка больше в сравнении с последними работами в этой области (см. [249], 2017 г., Оганесян и др.). Поэтому при такой длине МД траектории совершенно обоснованным представляется ожидание автора извлечь максимально достоверное и точное описание динамики исследуемой системы. В результате оказывается, что благодаря использованию “...длинных траекторий МД”,

которые значительно (на 4 порядка) превышают типичный масштаб времени вращения белка (τ_{rot}), появляется возможность смоделировать вращение белка с количественной точностью”.

Другим очевидным достоинством предложенного автором подхода является использование для разделения вкладов общего диффузионного и локального движений спинового зонда в форму ЭПР-сигнала с помощью моделирования “выключения” вращения белка во время обработки МД траектории. Это достигается путем наложения координат белка из всех кадров МД на одну опорную структуру. Кроме того, можно регулировать скорость вращения белка, тем самым имитируя изменение его размера или вязкости растворителя. Для этого был разработан специальный алгоритм (см. с. 143; раздел 3.4.1), который включает вычисление матрицы вращения, соответствующие переориентации GB1 в траектории с шагом 1 пс. Изменение амплитуды этих элементарных вращений может производиться с помощью коэффициента масштабирования λ : при $\lambda < 1$ вращение замедляется, а при $\lambda > 1$ — ускоряется. Такие переопределенные повороты используются для сборки псевдотраектории, которая отличается от исходной траектории только в отношении скорости вращения белка. Эта псевдотраектория используется для вычисления ЭПР спектра с использованием стандартного подхода прямой пропагации, который в свою очередь сопоставляется с экспериментальным.

Оценка достоинств 3-й главы была бы неполной без упоминания о проверке применимости теории Редфилда для спин-меченых образцов белка. С этой целью ЭПР-спектры, полученные с помощью обычной схемы прямой пропагации, сравнились со спектрами, рассчитанными из тех же траекторий МД на основе современной формулировки теории Редфилда в пространстве Лиувилля. Результаты такого сопоставления показывают, что теория Редфилда должна хорошо работать для многих образцов белка, и особенно для тех, где спиновая метка находится на поверхности биомолекулы. Кроме того, на примере использования ^{15}N -обогащенного варианта спиновой метки и наблюдения в спектре ЭПР характерного различия в уширении компонент дублетного сигнала, а также исчезновения этой асимметрии при “выключении” вращения молекулы GB1 во время обработки МД траектории, впервые применительно к ЭПР спектроскопии белка, помеченного ^{15}N -обогащенной спиновой меткой (MTSSL), был обнаружен, хорошо известный в спектроскопии ЯМР, кросс-корреляционный (DD/CSA) эффект, на котором основан один из наиболее мощных современных ЯМР-методов исследования биомолекул - спектроскопия TROSY.

Таким образом, обнаруженный в ЭПР-спектре кросс-корреляционный эффект позволил автору (и его коллегам) сделать несколько важных и далеко идущих методологических выводов (см. с. 135). Во-первых, “многие концепции, которые были разработаны в ЯМР-спектроскопии и основаны на теории Редфилда, также применимы и в ЭПР-спектроскопии”; во-вторых, диапазон применимости теории Редфилда, “...повидимому, гораздо шире, чем считалось ранее, и охватывает не только небольшие парамагнитные молекулы, но также и многие образцы спин-меченых белков, представляющие практический интерес”; и, наконец, в-третьих, “аналогия со знаменитым эффектом TROSY открывает интригующую возможность того, что концепция эксперимента TROSY когда-нибудь может быть адаптирована для использования в импульсной спектроскопии ЭПР.”

В четвертой главе диссертации Измайлова С.А. исследуется связь между глобальными и локальными движениями, наблюдаемыми в кристаллах белка на микросекундном масштабе времени. Вопрос о том, как сильно кристаллическая упаковка меняет свойства белковых молекул, является крайне актуальным, поскольку раствор, в котором белок функционирует в организме, существенно отличается от кристалла, а одним из наиболее эффективных методов структурных исследований биомолекул является рентгеновская дифракция (XRD). Особенно мало изучен вопрос о том, насколько эквивалентна динамика молекулы белка в кристалле тому, что происходит в растворе.

В работе на примере исследования с помощью МД-моделирования и использования ЯМР-экспериментов в твердом теле (MAS ssNMR) двух различных кристаллических форм небольшого (8.6 кДа) регуляторного белка убиквитин предпринята попытка оценить взаимное влияние локальных конформационных переходов и качательной динамики этих молекул в кристаллической решетке. Основные экспериментальные результаты были получены с помощью релаксационных дисперсионных измерений $R_{1\rho}$ типа Блоха-МакКоннелла в твердом теле на ядрах ^{15}N . Помимо этого, использовались недавно (см. [370], 2014 г.) разработанные $R_{1\rho}$ -эксперименты, проводящиеся при высокой напряженности радиочастотного поля вблизи условия вращательного резонанса $\omega_{\text{RF}}^{\text{eff}} = \omega_{\text{MAS}}$ (NERRD, near-rotary-resonance relaxation dispersion). Результаты такого эксперимента чувствительны к угловым флуктуациям векторов $\text{H} - \text{N}$ связи, следовательно, анализ таких данных на основе численного моделирования позволяет получать ценную информацию об угловой амплитуде микросекундных движений.

В диссертационной работе представлены результаты МД-моделирования орторомбического (MPD-ub) и кубического (cubic-PEG-ub) кристаллов убиквитина. Для первого из этих кристаллов в качестве ячейки моделирования использовалась кристаллическая ячейка, содержащая 24 молекулы убиквитина, а для второго – 48. Помимо белковых молекул ячейки моделирования содержался явный растворитель, а общая длительность записанных траекторий для каждого из кристаллов составляла более 10 мкс. Кроме кристаллических форм была также записана траектория для убиквитина в растворе.

В результате этого исследования с активным использованием возможностей МД-моделирования автором показано, что белковые молекулы в кристаллической решетке сохраняют локальные формы внутренней динамики, наблюдаемые в растворе. Помимо этого в кристалле обнаруживаются качательные движения белковых молекул с амплитудой в несколько градусов.

В ходе МД моделирования были зарегистрированы многочисленные конформационные переходы на участке последовательности 51–54 (переходы между β -поворотом I и II типа). Следует отметить, что данные МД правильно предсказывают отношение двух конформационных форм ($\beta\text{I}/\beta\text{II}$), составляющее 10:90 в первом кристалле, 70:30 во втором кристалле и 90:10 в растворе. На их основе была предпринята попытка идентифицировать эффекты кристаллической упаковки, определяющие указанную пропорцию. Была выявлена ключевая роль остатка E24, образующего водородную связь с остатком G53 (см. Рис. 4.4 на с. 180). Поскольку, согласно этим данным, в растворе и в кубическом кристалле боковая цепь E24 находится преимущественно в окружении растворителя, то можно предполагать, что соответствующий энтропийный вклад

перевешивает выигрыш от формирования водородной связи. В то же время, в орторомбическом кристалле MPD-ub боковая цепь E24 заблокирована соседними белковыми молекулами и предпочтительным оказывается состояние, в котором этот остаток образует водородную связь.

Можно также отметить сделанное в работе предположение о том, что внутренняя конформационная динамика (т.е. переходы между β -поворотом I и II типа) коррелирует с качательными движениями молекул убиквитина в кристаллической решетке. Действительно, локальная конформационная перестройка ведет к незначительному, но ощутимому изменению формы белковой молекулы, что в свою очередь приводит к “переупаковке” кристалла, т.е. малой переориентации белковых молекул. В частности, в пользу этого может свидетельствовать сходный временной масштаб этих двух форм динамики (~100 мкс). Однако, в целом не удалось получить статистически значимых свидетельств такой корреляции.

Наконец, данные МД были использованы с тем, чтобы оценить эффект модуляции химических сдвигов за счет медленной (микросекундной) динамики. Были получены примеры модуляции химических сдвигов, имеющих причиной как локальную конформационную динамику, так и качательное движение белковых молекул.

Совершенно очевидно, что получение всех вышеописанных научных результатов диссертации Измайлова С.И. было бы невозможно без создания эффективной вычислительной инфраструктуры, основные элементы которой кратко изложены им в пятой главе. В нее входят сервисные библиотеки `remote-runner` и `amber-runner`, позволяющие удобным образом выполнять задачи МД моделирования, используя гетерогенные вычислительные ресурсы (как локальные, так и удаленные). Также были созданы библиотеки для обработки и анализа траекторий МД, `ruxmlpp2` и `xmol_traj`. В рамках этих библиотек реализованы как элементарные функции (например, извлечение координат определенного атома), так и задачи высокого уровня (например, идентификация водородных связей, расчет корреляционных функций и пр.).

Поскольку все библиотеки снабжены необходимыми описаниями и размещены в открытом доступе на платформе `github` под лицензией MIT, то наилучшим способом оценки работы автора будет их широкое и эффективное использование заинтересованным научным сообществом. Несомненно, что богатый опыт, полученный автором в области математического моделирования (и создания программ) и его использования при решении актуальных задач современной биологии будет востребован и оценен.

Знакомство с диссертацией Измайлова С.А. несомненно будет полезным для студентов, аспирантов и молодых сотрудников многих естественно-научных специальностей, поскольку в ней дается представление о методологических аспектах современной научной работы, ведущейся на “стыке” интересов и проблем самых разных направлений математики, (био)физики, (био)химии, молекулярной биологии, медицины и др. специальных и прикладных областей естествознания. Поэтому автору диссертации (и его коллегам) можно предложить задуматься (после защиты, конечно) о переформатировании диссертационной работы в учебно-научное “пособие” по математическому моделированию и практическому сопровождению сложных, но крайне важных научных исследований.

В этой связи, возможно, окажутся полезными некоторые из следующих пожеланий, замечаний и исправлений в русскоязычном тексте диссертации, которые были обнаружены в процессе его изучения:

1. Пожелания (по оформлению):
 - Обилие использованных в тексте аббревиатур лишь в малой степени отражено в приведенном на с. 225 списке аббревиатур и сокращений – его нужно увеличить, добавив, например, модель воды TIP4P-D, молекулу MTSSL, импульсные последовательности TROSY и CPMG, ансамбли NPT и NVE и др.
 - Желательно одинаковое написание названия цитируемого журнала. Например, в ссылке 309 - “Journal of magnetic resonance”, а в 308, 372, 395 - “Journal of Magnetic Resonance”; в ссылке 363 - “Protein science”, а в 380 и 385 - “Protein Science”; в ссылке 268 – “Science”, а в 343- “science”; в ссылке 331 – “The Journal of Physical Chemistry, а в 397 – “The journal of physical chemistry”; в ссылке 255 – “Applied Magnetic Resonance”, а в 272 – “Applied magnetic resonance”; в ссылке 353 нет данных, кроме года (1993).
 - Желательно уменьшить в русскоязычном тексте число “англицизмов”.
 - на с. 71: “усовершенствованные схемы семплирования” (sampling – выборка, отбор проб, дискретизация, выборное исследование);
 - на с. 80: “радиус гирации”, radius of gyration – радиус вращения, циркуляции, инерции;
 - на с. 104, в подписи к рис. 2.10: “...эффект компактизации...”, (the “compaction” effect observed - в английском варианте взято в кавычки, а в русском нет. Возможно, лучше эффект “уплотнения” ?).
2. Замечания (лишние и/или непонятные слова в тексте, затрудняющие его понимание):

Например, на с. 28: “Наконец, из этого графика видно, что в нашей модели координаты были сохранены с частотой 1 пс, поэтому что начальный спад CNH(t) на масштабе времени фемтосекунд не может быть должным образом рассмотрен (см. англ. вариант: p. 26 “Finally, it is clear from this plot that the initial femtosecond timescale decay of CNH(t) is not properly sampled in our simulation, in which the coordinates have been stored at the standard interval of 1 ps”);

на с. 109: “Этот прогресс главным образом обязан успехам в рентгеновской кристаллографии высокого разрешения и, в меньшей степени, к жидкостному ЯМР.” (несогласованность, пропущено слово “относится”);

на с. 117, внизу: “Характерное время вращения спин-меченого GB1 в наших моделях было оказалось 3.35 нс ...” (лишнее слово);

на с. 139: “Координаты белка были сохранялись каждую пикосекунду” (лишнее слово);

на с. 82: “можно грубо оценить, что 1 и из 10^{10} близких контактов” (лишняя буква “и”);

на с. 168: “...соответствующая модуляция химического сдвига увеличивает в скорость $R_{1\rho}$ ”, нужно добавить слово “вклад”, тогда будет: “увеличивает вклад в скорость”;

на с. 181: “Это иллюстрируется на Рис. 4.4 с, d, которые сравнивают объем пространства, доступного для боковой цепи E24 в кристаллах MPD-UB и cubic-PEG-ub.”, по-видимому, должно быть: “...объем пространства, доступный...”, а также “MPD-ub”, вместо “MPD-UB”.
3. Исправления (знаки препинания и ошибки в написании слов):

На с. 91: “Довольно просто замедлить скорость реакции чтобы...”, пропущена запятая;

на с. 94: “... оказались в положении способствующем образованию дисульфидов...”, пропущена запятая и буква “ю” в слове “способствующем”;

на с. 100: “... отклонение равно $(r - r^{\text{NOE}}_{\text{high}})$ если r больше верхней границы $r^{\text{NOE}}_{\text{high}}$ и (iii) отклонение $(r^{\text{NOE}}_{\text{low}} - r)$ если r меньше нижней границы $r^{\text{NOE}}_{\text{low}}$ ”, отсутствуют запятые перед словом “если”;

на с. 146: “мы совместили атомы C^α принадлежащие к вторичной структуре, определенной на основе...”, пропущена запятая;
на с.184: “Ротамерные переходы H68 (из $\chi_1 = -60^\circ$ в 180° и обратно) взывают модуляцию...”, пропущена буква “ы” в слове “вызывают”;
на с. 149: “Т.к. \hat{L}_0 эрмитов, то его собственные операторы \hat{V}_i можно сделать ортогональным”, необходимо добавить букву “и” в слове “ортогональными”;
на с. 153 в Рис. 3.7 для обозначение шкал 2D спектра HSQC использована угловая частота ω , измеряемая в “rad.s⁻¹”, но, судя по оцифровке обеих шкал и по использованной единице измерения “ppm”, нужно поменять “ ω ” на обозначение химического сдвига – “ δ ”;

- (несоответствия русского и английского вариантов текста):

на с. 72: “...ситуация такова, что можно использовать симуляции МД для успешного сворачивания небольшого (76 остатков) белка без дисульфидных связей, например убиквитина [135]. Но при этом отсутствуют возможности для сворачивания другого (популярного) модельного 58-аминокислотного белка BPTI...”, а в английском варианте на с. 68: “...situation is such that unbiased MD simulations can be used to successfully fold a (cysteine-free) 76-residue protein ubiquitin [135], but lack the facilities to attempt folding of another popular model protein, 58-residue BPTI...”, т.е. в русском варианте отсутствуют подчеркнутые слова в скобках;
на с. 10 при перечислении вклада автора и его коллег в данную работу в русском варианте текста для 3-ей главы указаны 3 соавтора (С.О.Р., С.М.С, Н.Р.С), а в английском на одного больше, т.е. в русском варианте по каким-то причинам отсутствует перевод предложения: “I.S. Podokorytov contributed a number of valuable ideas.”, (должно быть I.S. Podkorytov) поэтому возникает вопрос о том, какой вариант текста (русский или английский) является более адекватным действительности.

Кроме перечисленных замечаний и исправлений к автору имеются также несколько уточняющих вопросов:

1. Сколько все-таки было коллег, помогавших автору в выполнении работы, результаты которой изложены в 3-ей главе диссертации ?, три или четыре ?
2. На с. 112 третьей главы, связанной с вычислением “длинных МД траекторий”, написано, что “происхождение наблюдаемых форм спектральных ЭПР-линий выяснялось на основе рекордной траектории МД моделирования общей длиной 180 мкс”, а при обсуждении производительности вычислений утверждалось, что “самая высокая скорость вычислений, 184 нс в день, была достигнута с использованием карты GTX 1080”.

Вопрос: Сколько времени занимало указанное рекордное моделирование и какие способы (алгоритмы) расчетов использовались для его минимизации ?

3. На с. 118 при перечислении достоинств предлагаемого подхода сказано: “Кроме того, наш подход автоматически учитывает анизотропию, которая важна для домена GB1, $D_{rot}^{\parallel} / D_{rot}^{\perp} = 1.39-1.45$ ”.

Вопрос: каким образом достигался “автоматический” учет анизотропии общей диффузии GB1 при расчетах и были ли попытки собственных экспериментальных (или иных) проверок этих значений для исследованных объектов? Если да, то, каким образом? Как сильно анизотропия может повлиять на результаты спектральных симуляций? Насколько удачна аксиально-симметричная модель описания диффузии для GB1?

Все перечисленные выше замечания относятся исключительно к оформлению диссертации, а возникшие при ее прочтении уточняющие вопросы совершенно не влияют на общее положительное впечатление от проделанной автором работы, которая представляет собой завершенное научное исследование и прекрасный пример творческого развития методологии использования возможностей методов МД сложных биомолекулярных систем для адекватного описания и объяснения их специфических взаимодействий и свойств с целью рационального создания новых лекарственных средств.

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 № 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 специальности 1.2.2. Математическое моделирование, численные методы и комплексы программ. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Член диссертационного совета

Доктор химических наук, доцент,

старший научный сотрудник кафедры органической химии Института химии СПбГУ

Селиванов Станислав Иванович

Дата:

9 сентября 2012