

## ОТЗЫВ

научного руководителя на диссертацию Лебедеко Ольги Олеговны на тему «Расчёты измеряемых параметров ЯМР на основе данных МД моделирования биомолекулярных систем: новые методы и приложения», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по научной специальности

### 1.3.8. Физика конденсированного состояния

Классическая структурная биология трактует белковые молекулы как объекты, обладающие хорошо определённой (уникальной) пространственной структурой. Тем не менее за последние несколько десятков лет было показано, что множество белков в естественных условиях имеют форму частично или полностью разупорядоченной пептидной цепочки. В число таких разупорядоченных последовательностей входят многие белки, тесным образом связанные с нейродегенеративными (Аβ, α-синуклеин) и онкологическими (с-Мус/Max, трансактивационный домен p53) заболеваниями.

При исследовании нативно разупорядоченных белков (IDP) и разупорядоченных фрагментов в составе структурированных белков (IDPR) концепция белковой структуры PDB должна уступить место новой, более общей модели. В качестве такой модели естественным образом могут быть использованы траектории молекулярной динамики. В принципе, траектории МД способны отобразить в полном объёме конформационное многообразие IDP вместе с полным набором временных констант, характеризующих переходы из одного конформационного состояния в другое. Однако достоверность моделей МД для IDP/IDPR находится под вопросом. Виной тому (1) параметризация стандартных силовых полей, которые исторически не предназначались для моделирования IDP, и (2) ограниченная длительность траекторий, которая ставит под сомнение статистическую значимость модели. Таким образом, прежде чем использовать МД траекторию в качестве модели IDP/IDPR необходимо подвергнуть её тщательной валидации на основе экспериментальных данных. Такого рода валидация и является предметом диссертационного исследования Ольги Олеговны Лебедеко.

В первой главе диссертации Ольга Олеговна исследует вопрос о применении коэффициента диффузии, измеряемого с помощью специализированного эксперимента ЯМР, для валидации МД модели разупорядоченного пептида N-H4 (25 аминокислотных остатков). В этой работе автором впервые представлена высокоэффективная схема МД моделирования, позволяющая строгим образом определить коэффициент диффузии на основе данных МД. Сопоставление расчётных результатов с экспериментальными позволяет сделать заключение о том, что МД траектории с использованием моделей воды TIP4P-D и OPC удовлетворительным образом описывают конформационный ансамбль пептида, в то время как траектория в воде TIP4P-Ew ведёт к недостоверному описанию ансамбля в виде избыточно компактной глобулы. Таким образом, данная работа представляет собой успешный пример валидации МД моделей на основе важного экспериментального параметра, коэффициента трансляционной диффузии разупорядоченного белка (пептида). Дополнительно отметим, что в рамках данной работы Ольга Олеговна рассмотрела четыре различных эмпирических метода, которые по замыслу их создателей



позволяют проводить подобные расчёты в упрощённой форме. Как было установлено Ольгой Олеговной, ни один из этих эмпирических методов не обеспечивает требуемой точности вычислений, а их применение может приводить к качественно неверным выводами.

Вторая глава диссертации посвящена вопросу об использовании данных парамагнитной релаксации (paramagnetic relaxation enhancement, PRE) для характеристики многокомпонентной системы, имеющей в своём составе разупорядоченные элементы. В качестве объекта исследования выступает нуклеосомная коровая частица, где парамагнитная метка прикреплена к одному из четырёх остатков на поверхности гистона H3 (в его структурированной части), а скорости спиновой релаксации измеряются для протонов  $^1\text{H}^N$  в подвижном N-концевом участке гистона H4. В целом следует отметить, что данные PRE потенциально представляют собой уникальный источник информации о структуре и динамике разупорядоченных систем, позволяющий оценивать межспиновые корреляции на достаточно длинных дистанциях. Однако до последнего времени в литературе не была представлена вычислительная схема, позволяющая производить расчёт PRE на основе данных МД моделирования. В своей работе Ольга Олеговна разработала и применила такую схему, в которой строгим образом вычисляется функция корреляции для дипольного взаимодействия между парамагнитным спином и спином  $^1\text{H}^N$ , включая не только эффект ориентационной динамики, но также и эффект модуляции межспинового расстояния за счёт движения разупорядоченного гистонового "хвоста". Прделанные с помощью этого алгоритма вычисления показали, что МД траектории нуклеосомы в воде TIP4P-D и OPC находятся в качественном согласии с экспериментальными данными PRE. В свою очередь, это позволяет применять данные траектории в качестве достоверного источника информации о структурных предпочтениях и динамике хвоста. Предпринятый Ольгой Олеговной анализ указывает на то, что хвост гистона H4 локализуется поблизости от поверхности нуклеосомной частицы, взаимодействуя с нуклеосомной ДНК по механизму "нечёткого" взаимодействия и сохраняя при этом достаточно высокую степень подвижности. В качестве отдельного комментария следует указать, что расчёты скоростей PRE предъявляют очень высокие требования к сходимости МД модели (в настоящем диссертационном исследовании автору пришлось прибегнуть к усреднению данных по двум копиям H4 и по аминокислотным остаткам в составе хвоста с тем, чтобы обеспечить приемлемый уровень сходимости).

Наконец, в третьей главе диссертации Ольга Олеговна использовала метод МД моделирования для исследования динамики боковых цепей фенилаланина в различных кристаллических формах небольшого глобулярного белка убиквитина. В этой системе конформационный беспорядок сводится к переворотам (flips) фенильных колец, поэтому данная часть работы не относится непосредственно к разупорядоченным белкам; тем не менее тема конформационной динамики объединяет её с предшествующими разделами. Интересно, что в этом исследовании автор не только констатирует качественное согласие между данными твердотельного ЯМР эксперимента и результатами моделирования МД, но и идёт дальше. Как оказалось, данные МД моделирования позволяют уточнить результаты исследования ЯМР, а именно подтверждают отнесение отдельных спектральных сигналов и позволяют объяснить отсутствие других сигналов. При этом нужно отметить, что попытки автора объяснить наблюдаемые различия в скорости переворотов между различными остатками оказались безуспешными. По-видимому, эти различия объясняются совокупностью малых вкладов,

которые плохо поддаются идентификации (в этой связи стоит напомнить, что динамика белка носит в высокой степени кооперативный характер).

В целом, по моей оценке представленная работа выполнена на мировом уровне и представляет непосредственный интерес как для сообщества учёных, занимающихся IDP, так и для исследователей, занимающихся МД моделированием. Об этом свидетельствует уровень публикаций Ольги Олеговны, вышедших в *Biophysical Journal*, *Journal of the American Chemical Society* и *Journal of Structural Biology X* (новая платформа *Journal of Structural Biology*). За годы работы в аспирантуре Ольга Олеговна зарекомендовала себя как прекрасный молодой специалист, обладающий обширными знаниями, впечатляющим набором технических компетенций и критическим мышлением, присущим каждому успешному исследователю. За годы моей университетской карьеры я встречал очень немногих людей в такой степени преданных науке, как Ольга Олеговна, и не встречал ни единого человека, который вкладывал бы столько сил и души в работу со студентами.

На основании всего вышесказанного, я полагаю, что представленная работа полностью соответствует требованиям предъявляемым к кандидатской диссертации, а Ольга Олеговна Лебеденко в высшей степени заслуживает присвоения степени кандидата физико-математических наук. Со своей стороны я должен отметить, что горд своей причастностью к выполненной ею исследовательской работе.

Научный руководитель,  
Ph.D.  
Руководитель Лаборатории биомолекулярного ЯМР  
Санкт-Петербургского государственного университета



Н.Р. Скрынников

17 октября 2024 г.



17.10.2024

