

Отзыв официального оппонента

о диссертации Коц Екатерины Дмитриевны на тему

«Молекулярное моделирование механизмов регуляции активности ферментов человека», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 02.00.17 – математическая и квантовая химия

Исследования ферментативных процессов несомненно важны и для фундаментальной науки, и для практических задач. Особый интерес вызывает изучение механизмов работы ферментов человека, в частности, факторов, нарушающих их функционирование. Экспериментальное изучение ферментативных процессов не всегда дает достаточную детализацию процесса, а прецизионные энзиматические эксперименты сложны и дороги. Помимо этого, экспериментальные данные всегда нуждаются в корректной интерпретации, которую можно обеспечить только на основании результатов молекулярного моделирования. Поэтому диссертация Екатерины Дмитриевны Коц, посвященная суперкомпьютерному молекулярному моделированию ферментативных процессов, актуальна.

Научная новизна. В диссертации Е.Д. Коц проведено полное изучение ферментативного цикла методами молекулярного моделирования гидролиза ацетиласпартата (NAA) в аспартоацилазе. Описан механизм реакции в активном центре, проведен поиск аллостерических центров (сайтов), ответственных за самоактивацию и самоингибирование, изучено влияние димерной белковой формы на функционирование фермента. В итоге, построена полная кинетическая схема, описывающая сложную концентрационную зависимость скорости процесса. Все эти результаты являются новыми.

Диссертация состоит из введения, 7 глав, выводов и списка цитируемой литературы (150 наименований). Работа изложена на 109 страницах машинописного текста и включает 53 рисунка и 8 таблиц.

Во Введении обосновывается важность выбранных объектов исследований, формулируется цели работы и приводится дорожная карта их поэтапного достижения.

Первая глава содержит сжатое описание и анализ литературы по биологическим и физико-химическим свойствам аспартоацилазы.

Вторая глава описывает технологию комбинированного подхода квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ) и его приложение к изучению механизма реакции и расчёту энергетических барьеров химических стадий ферментативного гидролиза NAA.

Третья глава посвящена моделированию диффузионных стадий гидролиза NAA, построению профиля свободной энергии полного каталитического цикла аспартоацилазы (hAsp) и выделению лимитирующих скорость элементарных стадий.

В четвертой главе обсуждается влияние четвертичной структуры hAsp на ферментативный катализ.

Пятая глава посвящена поиску аллостерических сайтов ингибирования hAsp субстратом и описанию механизмов регуляции методами статистического анализа МД траекторий.

Шестая глава посвящена поиску сайта аллостерической активации и описанию способов его воздействия на каталитическую активность hAsp.

В седьмой главе приведены приложения результатов моделирования для описания кинетики гидролиза NAA, предложена полная схема, описывающая поведение фермента как при низких, так и при высоких концентрациях.

Основные выводы диссертационного исследования приведены в заключении работы. Среди них выделим особенно важные и новые.

1. По результатам расчёта профиля свободной энергии для полного каталитического цикла фермента центральной нервной системы человека hAsp сделан вывод, что вклад в эффективную каталитическую константу гидролиза субстрата (N-ацетил-L-аспартата) определяется элементарными стадиями

нуклеофильной атаки каталитической молекулы воды и выхода ацетат-аниона в раствор.

2. Установлено, что субъединицы гомодимера hAsp имеют неидентичные каталитические свойства вследствие понижения симметрии четвертичной структуры в динамике белка по сравнению со структурой кристалла.
3. Найдено, что взаимодействие между двух химически идентичных мономеров hAsp влияет на равновесие между открытой (активной) и закрытой (неактивной) для субстрата формами одного из мономеров.
4. Аллостерическое воздействие N-ацетил-L-аспартата на структурно идентичные участки субъединиц вызывает различный отклик в области входа в транспортный канал фермента.
5. Связывание в найденных сайтах ингибирования и активации N-ацетил-L-аспартата смещает равновесие между открытой и закрытой формами hAsp.
6. Предложена кинетическая схема, описывающая hAsp как систему с одним активным центром, двумя сайтами активации и одним сайтом ингибирования. Схема полностью воспроизводит кинетические эксперименты.
7. На примере других ферментов человека - ацетилхолинэстеразы, ферментов зрительной системы Arl3·RP2 и ферментов сигнальной системы Ras·GAP продемонстрирована применимость использованных методов компьютерного моделирования к изучению свойств ферментов.

Достоверность результатов работы определяется тем, что весь объем данных в диссертации получен апробированными и надежными методами вычислительной химии. Результаты сопоставлены с имеющимися в литературе данными и доказано хорошее согласие данных моделирования и эксперимента. Эти факты обеспечивают надежность и достоверность полученных результатов и выводов диссертации, которые сомнений не вызывают.

Результаты исследований апробированы на представительных научных конференциях. Диссертация написана достаточно ясно и хорошо оформлена.

По работе имеются замечания.

1. На стр. 32 диссертации утверждается, что «хорошие результаты применения метода DFT получаются при использовании трёх-экспонентных базисов», при этом «оптимизация геометрии в двух-экспонентном базисе даёт тот же результат, что и в базисах большего размера». Основанием является работа [81], выполненная в 2005 г. С тех пор, однако, КМ/ММ подход получил существенное развитие. На мой взгляд, диссертанту стоило бы провести расчёты энергий в стационарных точках с базисами большего размера и проанализировать разброс получаемых значений.
2. В подписи к рисунку 15 и объясняющем его тексте имеет место смешение понятий: в подписи говорится о потенциальной энергии, а в тексте фигурирует энтальпия.
3. В связи с предыдущим замечанием, уместно поставить вопрос, насколько энергия нулевых колебаний смещает относительные положения энергетических состояний стационарных точек? К сожалению, этот фактор выпал из поля зрения диссертанта.

Сделанные замечания носят уточняющий характер и не снижают позитивной оценки работы и не влияют на выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации.

В заключение, укажем, что диссертация Коц Е.Д. является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи теоретического исследования механизмов реакций ряда ферментов человека методами молекулярного моделирования. Содержание диссертации полностью соответствует паспорту специальности 02.00.17 – Математическая и квантовая химия. Работа обладает научной новизной, выполнена на хорошем теоретическом уровне с использованием современных методов молекулярного моделирования, ее результаты должным образом интерпретированы. Поставленные автором диссертации задачи решены. Достоверность полученных данных сомнений не вызывает. Автореферат диссертации соответствует ее содержанию. Полученные результаты достаточно полно отражены в публикациях – 8 статьях в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и

SCOPUS, в 2 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК, и доложены на 7 научных конференциях.

Считаю, что по актуальности темы, объему проведенных исследований, новизне полученных результатов, методам исследования и научной практической значимости работа Е.Д. Коц соответствует требованиям п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 «Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова».

Таким образом, соискатель Екатерина Дмитриевна Коц заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 02.00.17 – математическая и квантовая химия.

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук

(01.04.17 - химическая физика, горение и взрыв,

физика экстремальных состояний вещества),

профессор

Цирельсон Владимир Григорьевич

Организация: ФГБОУ ВО «Российский

химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

Должность: заведующий кафедрой квантовой химии,

Адрес: 125047, Москва, Миусская площадь, 9.

Телефон: 7-499-978-9584

Адрес электронной почты: tsirel@muctr.ru

Подпись В.Г. Цирельсона заверяю

Дата 21.02.18



В.Г. Цирельсон (Варьяков Д.А.)