

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Волынцевой Алены Дмитриевны

на тему: «**Молекулярное моделирование структурной динамики потенциал-управляемых калиевых каналов Kv1 и их комплексов с пептидными блокаторами**» по специальности 03.01.02 – «Биофизика»

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа посвящена моделированию структур потенциал-управляемых калиевых каналов Kv1.1, Kv1.3 и Kv1.6, их гибридов с бактериальным каналом KcsA и комплексов с пептидными блокаторами семейства α -КТх, выделенными из яда скорпионов. В рамках работы описан механизм взаимной молекулярной подстройки структур каналов и блокаторов, детально охарактеризованы образующиеся интерфейсы связывания и продемонстрирован многоточечный характер возникающих взаимодействий. Предложены мутантные формы пептидного блокатора аджитоксина 2 с измененными параметрами связывания с каналом Kv1.1.

Калиевые каналы представлены во всех живых организмах и играют ключевую роль в функционировании клеток живого организма. Возникновение мутаций в них может сопровождаться развитием неврологических, аутоиммунных и онкологических заболеваний. Исследования структуры и функционирования калиевых каналов, а также их комплексов с пептидными блокаторами позволят расширить знания об особенностях калиевых каналов, а также разработать высокоселективные блокаторы на основе природных соединений для использования в качестве лекарственных препаратов. Использование методов молекулярного моделирования, наряду с имеющимися и вновь получаемыми экспериментальными данными, служит решению таких задач. В связи с этим, не вызывает никакого сомнения актуальность темы диссертационного исследования.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Волынцевой А.Д. изложена на 163 страницах и имеет традиционную структуру. Она состоит из введения, 3 глав, заключения и списка цитируемой литературы, включающего 344 наименования. Работа содержит 40 рисунков и 10 таблиц.

Во вводной части обоснованы актуальность работы и сформулированы цели и задачи исследования, представлены положения, выносимые на защиту.

Первая глава содержит литературный обзор. Это самая большая глава в диссертации, но ее объем не является избыточным. Содержание литературного обзора тесно связано с проведенным в диссертации исследованием комплексов потенциал-управляемых калиевых каналов Kv1.x с пептидными блокаторами. В обзоре приводится описание строения, классификации и функционирования потенциал управляемых калиевых каналов и их пептидных блокаторов. Указывается, что первой и единственной из опубликованных структур эукариотических калиевых каналов Kv1.x является структура Kv1.2, опубликованная в 2005 и уточненная в 2010 году. Анализируются модели взаимодействия пептидных блокаторов с калиевыми каналами. Говорится о значении пептидных блокаторов для медицинских применений. Указывается на важность энергии взаимодействия. Приводятся сведения о свободной энергии связи Kv-каналов с пептидными блокаторами поры и важности этой характеристики для отбора блокаторов разной селективности. Важное место в обзоре отводится описанию применяемых методов и программных средств молекулярного моделирования калиевых каналов и их комплексов: моделированию по гомологии, молекулярному докингу, применению методов молекулярной динамики, броуновской динамики, Монте-Карло, расчету взаимодействия между каналами и блокаторами. На основе анализа литературных данных делается вывод, что применение методов молекулярного моделирования

позволяет достоверно воспроизводить молекулярные взаимодействия между калиевыми каналами и пептидными блокаторами, а также предсказывать влияние аминокислотных замен на селективность и аффинность связывания. Развитие вычислительных подходов позволит значительно ускорить и повысить эффективность процесса разработки селективных блокаторов для применения в медицине.

Во второй главе описано, что и как делалось, какие объекты и какие вычислительные методы использовались в диссертации. Для отбора блокаторов воспользовались литературными данными. Описано построение моделей блокаторов на основе известных пространственных структур, полученных РСА и ЯМР, по гомологии, введением точечных замен. Для уравнивания исходных структур проводились МД-расчеты молекул токсинов в водно-солевом окружении. Нативные структуры Kv1 каналов были получены с помощью метода моделирования по гомологии по шаблону полученных экспериментально с помощью метода РСА моделей канала Kv1.2. Гибридные каналы получались аналогичным образом. МД-расчеты использовались для уравнивания модельных систем. В этой главе приведено также описание метода расчета различных вкладов во взаимодействие аминокислотных остатков канала и блокатора. Определены ключевые остатки, ответственные за аффинность связывания блокаторов.

В третьей главе приведены основные результаты проведенного исследования и их обсуждение. В рамках данной работы было проведено моделирование поровых доменов нативных каналов Kv1 и гибридных каналов KcsA-Kv1, моделирование структур пептидных блокаторов, моделирование структур комплексов потенциал-управляемых калиевых каналов с пептидными блокаторами. Изучены особенности интерфейса взаимодействия Kv1.x каналов с аджитоксином 2, охарактеризован интерфейс связывания аджитоксина 2 с каналом KcsA-Kv1.3, выявлены общие черты связывания аджитоксина с каналами семейства KcsA-Kv1.x.

Материал излагается строго, логически связно, выводы вытекают из приведенных данных и представляются достоверными.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

В диссертации впервые смоделированы структуры комплексов потенциал-управляемых калиевых каналов Kv1.1, Kv1.3 и Kv1.6 с пептидными блокаторами семейства α -КТх методом моделирования по гомологии по шаблону кристаллографической структуры комплекса эукариотического гибридного канала Kv1.2-2.1 с харибдотоксином. Детально описан интерфейс связывания потенциал-управляемых калиевых каналов Kv1.1, Kv1.3 и Kv1.6 с пептидными высокоаффинными блокаторами, выделенными из яда скорпионов. Анализ интерфейсов взаимодействия позволил выявить консервативные и переменные контакты в ряду комплексов пептидов с каналами Kv1.1, Kv1.3 и Kv1.6, отвечающие за различия в аффинности связывания родственных блокаторов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций и заключений

Диссертация Волынцевой А.Д. является актуальным и достоверным научным исследованием. Полученные в диссертации основные результаты и сформулированные выводы соответствуют положениям, выносимым на защиту, и не вызывают сомнений в их достоверности. На высокий уровень проведенных исследований указывают также статьи, опубликованные по результатам диссертационной работы, и список конференций, на которых проводилась апробация полученных результатов. Основные результаты по теме диссертации опубликованы в 7 статьях в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК, и доложены на Международных и Российских конференциях (17 опубликованных тезисов).

Диссертация представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, выполненное на высоком научном уровне с

использованием самых современных методов, имеет фундаментальную и практическую значимость.

Диссертация Волынцевой Алены Дмитриевны отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.02 – «Биофизика» (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 Волынцева Алена Дмитриевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика».

Официальный оппонент:

БАЛАБАЕВ Николай Кириллович

кандидат физико-математических наук,

доцент, ведущий научный сотрудник

Института математических проблем биологии РАН –

филиала Института прикладной математики

им. М.В. Келдыша Российской академии наук



Контактные данные:

тел.: +7(903)5586537, e-mail: balabaev@psn.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

01.04.15 – Физика и технология наноструктур, атомная и молекулярная физика.

Адрес места работы:

142290, Московская область, г.Пушино, ул. проф. Виткевича, д.1, ИМПБ

РАН

Институт математических проблем биологии РАН – филиал Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной математики им. М.В. Келдыша Российской академии наук»

Тел.: +7(496)731-85-17; e-mail: balabaev@psn.ru

Подпись сотрудника организации

Н.К. Балабаева удостоверяю:

начальник ОК филиала



/Галушко Т.А./