

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Шараповой Яны Александровны
на тему: «Поиск новых путей регуляции функциональных свойств
нейраминидазы NanA как ключевого фермента патогенеза *Streptococcus
pneumoniae* с использованием методов компьютерной биологии»
по специальности 03.01.08 – «Биоинженерия»**

Сиализидазы (нейраминидазы) играют важную роль в жизнедеятельности многих организмов. Эти ферменты являются факторами вирулентности вирусов, вызывающих ОРВИ, грипп, и другие заболевания; служат ключевыми факторами патогенности бактерий-возбудителей перитонита, холеры, гангрены. Нейраминидаза А *Streptococcus pneumoniae* играет важную роль в патогенезе и колонизации пневмококка в организме хозяина. Фермент способен отщеплять сиаловую кислоту от олигосахаридных рецепторов на поверхности эпителия, таким образом способствуя адгезии, а также питанию и росту бактерий. Показано участие нейраминидазы А в формировании биопленок пневмококка. Учитывая тот факт, что механизм действия нейраминидазы А пневмококка и возможности подавления ее активности еще мало изучены, тему диссертационной работы Шараповой Яны Александровны следует признать важной и своевременной.

Структура диссертации традиционная, включает введение, обзор литературы, методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, основные результаты и выводы, а также список цитируемой литературы. Текст изложен на 160 страницах, включает 44 рисунка, 2 таблицы и 261 цитированных источника. Особенностью диссертации является очень детальное описание методов исследования (сбор первичной информации, методы биоинформатического анализа, молекулярного моделирования, молекулярной динамики, визуализации результатов) с включением части полученных данных, которые обычно представляются в разделе «Результаты и обсуждение». Эта особенность приводит к некоторым неудобствам при чтении диссертации.

В обзоре литературы проанализированы опубликованные данные, касающиеся структуры и каталитических свойств ферментов суперсемейства сиалидаз (нейраминидаз), их роль в патогенезе *S.pneumonia* и образовании биоплёнок, синергии нейраминидаз пневмококка и вируса гриппа, перспективности использования нейраминидаз в качестве мишени для создания лекарств. На основании данных научной литературы сформулирована цель - применение современных методов компьютерной биологии для поиска новых путей регуляции функциональных свойств нейраминидазы А. Для достижения поставленной цели Шараповой Я.А. были поставлены конкретные задачи:

1. Провести сравнительный биоинформатический анализ информации о последовательностях и структурах родственных нейраминидаз/сиалидаз для выявления общих черт структурной организации, закономерностей функционирования и регуляции эволюционно удаленных гомологов из различных бактерий и вирусов;
2. С использованием биоинформатического анализа и молекулярного моделирования изучить особенности организации участков связывания лигандов в структуре фермента и охарактеризовать ранее неизвестные участки связывания;
3. Применяя молекулярное моделирование изучить механизмы ингибирования нейраминидазы А при связывании ингибиторов не только в активном центре фермента, но и других, в том числе идентифицированных автором, участках связывания в структуре фермента.

Проведенные диссертантом исследования позволили установить ранее неизвестные детали механизма действия и регуляции нейраминидазы А из *S.pneumoniae*. Наиболее значимыми результатами, полученными в диссертационной работе Шараповой Я.А., считаю следующие:

Установление отличной от большинства сиалидаз структурной организации фермента, когда отдельные домены белковой молекулы не

образуют цельную глобулу, а функционируют независимо, связанные гибким линкером. Такой модульный фермент, благодаря дополнительному присутствию неупорядоченных участков, обладает большой гибкостью и подвижностью, необходимыми для проявления уникальной функциональной роли.

Была продемонстрирована способность нейраминидазы А из *S.pneumoniae* вступать в межмолекулярные взаимодействия и образовывать супрамолекулярные ансамбли, которые могут быть основой формирования биопленок пневмококка. Диссертанту удалось весьма убедительно показать конкретный механизм этого сложного явления, играющего важнейшую роль в патогенезе.

Обнаружение ранее неизвестных участков связывания лигандов в структуре белка, которые, по мнению диссертанта, являются аллостерическими центрами, характеристика их строения и предположение о возможности использования для регуляции функциональных свойств нейраминидазы А.

Диссертация Шараповой Я.А. оставляет очень хорошее впечатление как цельное, глубокое исследование, однако наряду с достоинствами необходимо отметить и некоторые недостатки. Как отмечалось выше, диссертанту удалось обнаружить ранее неизвестные участки связывания лигандов в структуре белка, для которых предположена роль аллостерических центров регуляции свойств фермента. Такое открытие, казалось бы, предполагает поиск соответствующих ингибиторов, которые представляют интерес для медицины, учитывая роль нейраминидазы А из *S.pneumoniae* в целом ряде инфекционных заболеваний. Обнаружение таких ингибиторов несомненно украсило бы проведенное исследование.

Однако, несмотря на сделанные замечания по представлению части результатов в разделе «Методы», а также упущенной возможности компьютерного дизайна новых ингибиторов фермента, диссертационная работа Шараповой Я.А. представляет научное исследование, выполненное на очень высоком научно-методическом уровне, в котором получены приоритетные

результаты большого научного и практического значения. В диссертации представлена подробная информация о проведенных экспериментах, которая позволяет сделать вывод об обоснованности сделанных выводов. Вынесенные на защиту положения соответствуют цели работы и поставленным задачам. Диссертация Шараповой Я.А. является законченным научным исследованием, выполненным на современном научно-методическом уровне.

По теме диссертации опубликованы 4 статьи в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах, индексируемых в наукометрических базах данных Web of Science и/или Scopus, в том числе две статьи в журнале первого квартиля The FEBS Journal, где диссертант является первым автором. Результаты работы в 2016-2020 гг. были доложены на 8 профильных конференциях, в том числе, 44-м Конгрессе FEBS, международной конференции Moscow Conference on Computational Molecular Biology в 2017 и 2019 гг., международной конференции «Суперкомпьютерные дни в России «RuSCDays'19»». Результаты, полученные Шараповой Я.А. широко известны и обсуждены научной общественностью, выводы работы не вызывают сомнений.

Диссертация отвечает всем требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.08 «Биоинженерия» (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.

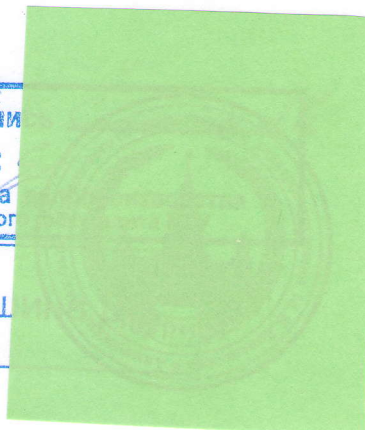
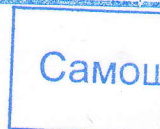
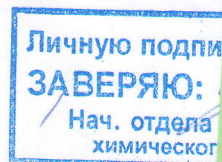
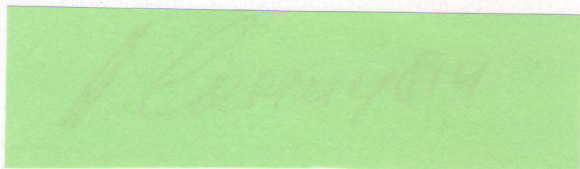
Считаю, что соискатель Шарапова Яна Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.08 «Биоинженерия».

Официальный оппонент:

Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией кафедры химической энзимологии Химического факультета Федерального

государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Синицын Аркадий Пантелеймонович



23 августа 2021 г.

Контактные данные:

тел. 8(916)611-4857

e-mail: apsinitsyn@enzyme.chem.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
02.00.15 – химическая кинетика и катализ

Адрес места работы:

119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, строение 11Б

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», химический факультет, кафедра химической энзимологии

тел. 8(495)9395417, e-mail: nlklyachko@enzyme.chem.msu.ru