

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»

Нейраминидаза NanA является одним из весьма важных и интересных ферментов с точки зрения развития и прогноза исхода инфекционных процессов при пневмониях и ряде вирусных инфекций. Этот фермент может быть мишенью для направленного воздействия с целью увеличения уязвимости патогенов за счет модификации адгезии и разрушения биопленок микроорганизмов. Вместе с тем, этот фермент остается относительно мало изученным и получение новых данных о его структурных и функциональных особенностях является актуальной задачей для биоинженерии противомикробных фармпрепаратов. Это перспективная, в частности, и противовирусная мишень (которую используют широко известные противовирусные препараты типа релензы или тами-флю).

В рассматриваемой диссертации рассматривается структурная организация функциональных участков нейраминидазы NanA и ряда родственных белков-ферментов с использованием методов биоинформатики и молекулярного моделирования. Полученные результаты отличаются научной новизной и возможностью их использования для решения практических биоинженерных задач при поиске новых путей регуляции и разработке ингибиторов ферментов этого типа.

Диссертация построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, основных результатов и выводов, а также списка цитируемой литературы. Диссертация изложена на 160 страницах, содержит 44 иллюстрации и цитирует 261 литературный источник. Изложение основных положений и результатов диссертации ясное и дает хорошее представление о высоком уровне подготовки соискателя в выбранной области науки.

В работе приведен хороший обзор современного состояния представлений о механизмах формирования бактериальных пленок и их роли в патогенезе пневмококков и роли метаболизма сиаловых кислот в этом процессе. Изложены также близкие по механизму процессы, связанные с патогенным воздействием ряда вирусов и обращено внимание на механизм усиления сочетанного воздействия некоторых вирусов и пневмококков. Тем самым, автор достаточно четко обосновал актуальность поставленной задачи и ее практическую значимость.

В диссертации автор справедливо выбрал для изучения один из основных для данной задачи путей метаболизма сиаловых кислот с участием нейрамидаз и

сосредоточился на структурных и функциональных исследованиях взаимодействия этих ферментов и субстратов. Исследование проводилось современными компьютерными методами молекулярного моделирования и биоинформатики. Выбор этих методов для структурно-функциональных исследований с учетом особенностей конкретного белка, который благодаря наличию длинного линкера плохо кристаллизуется представляется вполне обоснованным.

Для структурных исследований использовались современные протоколы и ПО моделирования по гомологии. Молекулярная динамика рассчитывалась с использованием хорошо зарекомендовавшего себя ПО. Параметры протокола и силовых полей выбирались с учетом особенностей моделируемых систем. Положительным фактором является сравнение результатов молекулярного моделирования объектов при вариации некоторых параметров силовых полей и моделей воды. Использовался широкий набор стартовых структур, длина траекторий составляла до 500 нс. Несомненно, эти факторы добавляют доверие к результатам и делают их обоснованными.

Отдельно можно отметить расчет и анализ карты поверхностного электростатического потенциала в области контакта каталитического и лектинового доменов. Хотя этот расчет носит вспомогательный результат, но он интересен в контексте общих рассуждений автора об особенностях структурной организации нейраминазы А и путях возможного влияния на функциональное состояние фермента.

В целом, результаты диссертации содержат необходимые сведения, позволяющие сделать обоснованные выводы. Вынесенные на защиту положения соответствуют цели работы и поставленным задачам.

По диссертации можно сделать ряд замечаний. Автор при моделировании фермента и его комплексов с лигандами в водном растворе варьировал силовые поля и модели воды для сравнительного анализа и демонстрации сходимости результатов. Это весьма положительно характеризует работу. Но, с другой стороны, было бы весьма уместно в тексте диссертации отразить степень различия конкретных параметров используемых вариантов силовых полей и хотя бы кратко пояснить почему автор считает эти различия значимыми для подтверждения предлагаемой картины структурного и функционального устройства данного фермента. Обращает внимание также определенная небрежность в описании численных экспериментов по установлению карт распределения зарядовой плотности на интерфейсе доменов. Дело в том, что формальное использование эффективных атомных зарядов в уравнении Пуассона-Больцмана может дать картину очень далекую от реальности. Для понимания сути получаемых результатов необходимо очень четко прописывать всю процедуру, начиная с алгоритмов определения парциальных атомных зарядов (по Малликену, по методу ЭСП, или как-то еще). Далее, известно, что получаемое распределение потенциала сильно зависит от выбора расстояния огибающей поверхности от центров атомов (или от центров атомов за вычетом ван-дер-ваальсовского радиуса атомов). Это очень чувствительный для распределения электростатических

характеристик параметр и его выбор требует определенных обоснований. Здесь просто ссылки на некий программный пакет явно недостаточно. Видимо, с этой небрежностью может быть связан полученный автором вывод о плохой электростатической комплементарности каталитического и лектинового доменов. В качестве стилистических замечаний можно отметить использование терминов "задумка", "эквilibрация", которые приятно разнообразят хороший русский язык диссертации.

Сделанные выше замечания не умаляют очевидных достоинств работы. Диссертация Я.А. Шараповой является законченным научным исследованием, выполненным на высоком современном научно-методическом уровне.

По теме диссертации опубликованы 4 статьи, где диссертант является первым автором, в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах, индексируемых в наукометрических базах данных Web of Science и/или Scopus, в том числе, две статьи в журнале The FEBS Journal. 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»».

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 физико-математических наук, профессор кафедры биоинженерии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

ШАЙТАН Константин Вольдемарович

25 августа 2021 г.

Контактные данные:

тел. 89037724502, e-mail: shaytan49@yandex.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.01.02 – «Биофизика»

Адрес места работы:

119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, строение 12

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра биоинженерии
тел. 84959395738, e-mail: info@mail.bio.msu.ru

Подпись сотрудника

МГУ имени М.В.Ломоносова

К.В. Шайтана удостоверяю:

Ученый секретарь биологического ф-та МГУ

25 августа 2021 г.

Е.В.Петрова