

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук
Ивонцина Леонида Андреевича
на тему: «Молекулярно-динамическое моделирование протонных полуканалов бактериальной F₀F₁-АТФсинтазы»
по специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика»
(физико-математические науки)**

Диссертационная работа Ивонцина Л.А. посвящена исследованию протонных каналов в АТФ-синтазе бактерий методами молекулярного моделирования. Работа является актуальной, поскольку последние достижения в области криоэлектронной микроскопии привели к уточнению пространственной структуры АТФ-синтазы, и появилась необходимость детально изучить транспорт протонов по каналам, роль отдельных аминокислотных остатков, а также молекул воды и липидов мембраны в этом процессе. Для достижения поставленных в работе целей был выбран метод полноатомной молекулярной динамики, хорошо зарекомендовавший себя при изучении белков, а также межмолекулярных взаимодействий. Для изучения была выбрана пространственная структура АТФ-синтазы *E. coli* высокого разрешения, полученная методом криогенной электронной микроскопии в Австралии в 2020 году.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, представляется высокой. Действительно, положения основаны на анализе экспериментально установленной структуры высокого разрешения и прямых наблюдений за изменениями этой структуры в процессе молекулярной динамики. Использованные методики апробированы и широко известны. Выводы диссертационного исследования четко сформулированы и основаны на конкретных количественных и качественных оценках протонных каналов АТФ-синтазы, в том числе отдельных аминокислотных остатков, их образующих, локализации в каналах молекул воды, взаимодействия исследованных аминокислотных остатков с липидами мембраны, а также на мутационном анализе.

Диссертация построена по классической схеме. Всего в работе четыре главы, в конце каждой из них (кроме первой) сформулированы выводы, которые скорее напоминают краткий реферат. Последнее стоит отнести к несомненным плюсам данной работы.

Первая глава представляет собой обзор литературы по теме диссертации и описывает современные представления о структуре и механизмах работы комплекса F_0F_1 -АТФ-синтазы. Особое внимание уделено структуре ее альфа-субъединицы и протонных полуканалов, а также каталитическому циклу АТФ-синтазы. Отдельно описано влияние молекул воды и липидного состава мембраны на протонный транспорт через полуканалы. Всего список литературы включает 214 наименований.

Вторая глава – это описание методики молекулярно-динамического моделирования структуры протонных полуканалов АТФ-синтазы. Особое внимание уделено деталям построения молекулярно-динамической модели, а именно устройству протонных полуканалов и их гидратации. Подробно описываются подготовка модельной системы и параметры моделирования. Кроме того, уделено внимание методике исследования траектории движения протонов через мембрану.

Третья глава посвящена исследованию влияния липидного состава мембраны на структуру и гидратацию протонных полуканалов АТФ-синтазы. Описаны детали подготовки модельных систем с различными типами мембран, в том числе содержащие кардиолипины. В результате молекулярно-динамического моделирования была выявлена траектория движения протонов через фактор F_0 АТФ-синтазы, встроенный в мембраны трех типов с различным липидным составом, при этом оказалось, что липидный состав практически не влиял на структуру протонных каналов. Молекулы воды, проникая глубоко внутрь каналов, формировали непрерывную упорядоченную цепочку, что способствовало (по предположению автора) повышению стабильности протонного транспорта через полуканалы.

Глава четыре посвящена мутационному анализу аминокислотных остатков, существенно влияющих на протонный транспорт. Очень подробно рассмотрены эффекты точечных мутаций остатков aArg210, aGlu219, aHis245, aAsn214 и aGln252, а также мутации аминокислот выходного полуканала. Показана структурная устойчивость полуканалов АТФ-синтазы к различным мутациям аминокислот а-субъединицы.

Диссертационная работа достаточно объемна и состоит из 161 страницы текста, при этом оформлена очень аккуратно, практически не встречаются опечатки. Автор, несомненно, проделал большую работу по написанию текста диссертации. Работа написана простым понятным языком.

Результаты работы опубликованы в рецензируемых журналах, в том числе входящих в первый квартиль по цитированию, а также представлены на многочисленных конференциях, в том числе за рубежом. Сформулированные в работе выводы достоверны, что подтверждается большим объемом фактического материала, и содержат новое научное знание о потенциальных путях протонного транспорта в АТФсинтазе и влиянии на эти пути рассмотренных в работе факторов.

Можно сформулировать следующие вопросы и замечания:

1. В работе для предсказания структур мутантных белков использовалась программа искусственного интеллекта AlphaFold. При этом, по всей видимости, использовалась вторая версия AlphaFold от 2021 года (именно на нее есть ссылка в диссертации, хотя версия программы прямо не указана). Однако, на текущий момент существует значительно более продвинутая третья версия этой программы от мая 2024 года. Как изменятся структуры мутантных белков, а, соответственно, и результаты работы и выводы из нее, если использовать более новую версию программы, учитывая, что в новой версии кардинально поменялся принцип предсказания белковых структур?

2. Все результаты и выводы диссертационной работы получены с использованием трехмерной структуры, опубликованной в 2020 году.

Однако, в работе есть ссылки на публикации автора и выступления на конференциях с результатами по теме диссертации, сделанные до 2020 года. Какие модели использовались для получения этих результатов?

3. В работе делаются выводы о путях протонного транспорта, хотя непосредственно сам транспорт протонов не моделируется (это затруднительно сделать, используя классический метод молекулярной динамики).

4. В диссертации и автореферате использовалось англоязычное выражение «in bulk», причем без кавычек. Применение этого термина в русскоязычной работе кажется неуместным. Кроме того, не совсем понятно, что оно означает применительно к движению протона.

5. На странице 129 диссертации фразу «молекулы воды могут попадать» следует изменить на «молекулы воды могут попадать».

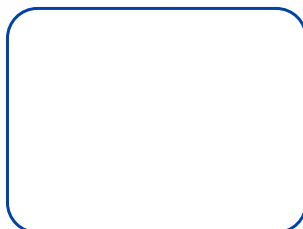
Указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика» (по физико-математическим 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 требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Ивонцин Леонид Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика» (физико-математические науки).

Официальный оппонент:

Доктор физико-математических наук,
ведущий научный сотрудник биологического факультета
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова»

Коваленко Илья Борисович



Контактные данные:

Тел.: +7(495)9390289, e-mail: kovalenko@biophys.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация: 03.01.02 – Биофизика (физико-математические
науки)

Адрес места работы: 119991, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1с12.
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова», биологический факультет
Тел.: +7(495)9390289, e-mail: kovalenko@biophys.msu.ru

Подпись ведущего научного сотрудника
биологического факультета
МГУ имени М.В.Ломоносова
И.Б. Коваленко удостоверяю:

Ученый секретарь



Е.В. Петрова