

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук
Ивонцина Леонида Андреевича
на тему: «Молекулярно-динамическое моделирование протонных полуканалов бактериальной F_0F_1 -АТФсинтазы»
по специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика»
(физико-математические науки)

Среди всех химических реакций самой распространенной во Вселенной является реакция переноса протона, занимающая также центральное место в работе множества биохимических комплексов, включая рассматриваемые в диссертации Л.А. Ивонцина протонные полуканалы. От эффективности переноса протона по этим полуканалам зависит работа всего метаболического пути синтеза АТФ. Перенос протона – это сложный процесс, протекающий в широком диапазоне характерных времен и включающий несколько стадий с различными условиями протекания и особенностями. Таким образом, изучение динамики переноса протона – **актуальная задача**, решение которой необходимо для понимания механизма окислительного фосфорилирования у аэробных организмов и, в дальнейшем, потенциально также для управления этим процессом.

В диссертации Леонида Ивонцина проблема рассматривается теоретически, методами молекулярного моделирования, но на серьезном фундаменте ранее проведенных и опубликованных экспериментов по определению структуры и механизмов действия рассматриваемых белковых комплексов. Основной фокус исследования сделан на установлении/предсказании наиболее вероятной траектории движения протонов в полуканале и на то, как на эту траекторию влияет состав бактериальной мембраны и точечные мутации в белке. **Положения, выносимые на защиту**, подробно обоснованы всей совокупностью полученных данных, сформулированы четко, по существу, и хорошо отражают суть полученных результатов. **Достоверность и новизна**

полученных результатов и сделанных на их основе выводов подтверждается, прежде всего, публикацией материала диссертации в 6-ти научных статьях, три из которых вышли в высокорейтинговых журналах, таких как *Arch. Biochem. Biophys.* (Q1), *Int. J. Molec. Sci.* (Q1) и *Life* (Q2).

В целом работа построена по классической схеме и состоит из введения, 4-х глав, заключения, выводов и списка литературы (библиография довольно обширна – 214 ссылок). Глава 1 – это обзор литературы, суммирующий то, что на данный момент известно о структуре F_0F_1 -АТФсинтазы и о механизме ее каталитического цикла. В этой главе формулируются и основные вопросы, рассматриваемые в последующих главах: вопрос о роли «структурных» молекул воды в протонных полуканалах, вопрос о влиянии липидного состава мембраны на эффективность переноса протона и вопрос о причинах высокой консервативности структуры АТФсинтазы как у эукариот, так и у прокариот.

Так как ценность получаемых молекулярно-динамических данных напрямую зависит от качества стартовой цифровой модели, Глава 2 посвящена прежде всего подготовке модельных систем: выбору конформации мембранной части бактериальной АТФсинтазы и строения окружающей ее липидной мембраны. В главе перечислены параметры молекулярно-динамического моделирования, использованные в работе, а также основные структурные характеристики, с помощью которых описывались результаты моделирования. В результате анализа полученных МД траекторий показано, что набор коротких контактов, реализующихся в полуканале, образует цепочку, которую можно считать наиболее вероятной траекторией передачи протона по эстафетному механизму. Часть коротких контактов реализуется с участием структурных молекул воды, часть – через прямые кислотно-основные взаимодействия между боковыми цепями аминокислот; наконец, часть пути передачи протона требует конформационного мерехода боковых цепей аспарагин и глутамин между их устойчивыми пространственными положениями.

В Главе 3 рассматриваются явления, к которым приводит изменение молекулярного состава бактериальной мембраны, а именно изменение относительных долей фосфатидилэтаноламина и анионного фосфолипида кардиолипина (помимо других липидов, характерных для бактериальной мембраны). Показано, что качественного изменения структуры полуканала при увеличении доли кардиолипина не происходит, но на эффективность процесса транспорта протона значительно влияет изменяющаяся при этом гидратация полуканала, вплоть до появления в канале непрерывной цепочки молекул воды (из-за чего может вырастать вероятность передачи протона уже по экипажному механизму, а не по механизму Гротгуса). Отмечается важность даже незначительных конформационных изменений в полуканале, так как они приводят к возникновению/разрушению прямых контактов между боковыми цепями аминокислот, что, в свою очередь, может ускорять или замедлять процесс перехода протона, и даже направлять его по «ложному пути».

Влияние замены отдельных аминокислот на структуру полуканала и на траекторию переноса протона рассмотрено в Главе 4. Теоретически рассмотрены 11 мутантных форм с точечными мутациями во входном полуканале и заменой ряда аминокислот на аланин в выходном полуканале. Показано, что в целом структура полуканала остается устойчивой к мутациям, но эффективность переноса протона может значительно изменяться за счет частичного разрушения описанной в Главе 1 цепочки коротких контактов. В частности, возможность переноса протона падает, если заменяется боковая цепь, непосредственно участвовавшая в передаче протона по цепочке, а также если в мутантной форме уменьшается гидратация внутренней части полуканала за счет введения туда гидрофобных боковых цепей.

Можно констатировать, что работа выполнена на высоком профессиональном уровне, в ней применены современные исследовательские методики и методы анализа данных. Диссертация написана хорошим языком и читается легко, несмотря на сложность темы. Текст тщательно вычитан, содержит очень мало опечаток. К достоинствам работы можно отнести и то,

что это работа не лоскутная, все исследование посвящено единой теме и работа в выбранном направлении велась весьма последовательно. Автором проделана большая и тщательная работа. К работе нет замечаний принципиального характера, которые повлияли бы на общую высокую оценку. Тем не менее, при прочтении возникли несколько приведенных ниже замечаний.

1. В работе мало внимания уделено обоснованию выбора конкретных параметров моделирования (почему именно вода TIP3P, почему именно силовое поле CHARMM36 и т.д.). Были ли попытки валидации выбранной модели? Какие систематические ошибки можно ожидать для выбранных моделей?
2. Так как в процессе моделирования не происходило собственно переноса протона, а его траектория «угадывалась» по расположению череды коротких контактов (коротких водородных связей), то важным представляется вопрос выбора стартовых состояний протонирования для боковых цепей аминокислот во внутреннем пространстве полуканала. Эти состояния протонирования могут отличаться от тех, которые наблюдаются в водном растворе при данном рН и, соответственно, могут отличаться и короткие контакты. Есть ли экспериментальные данные, обосновывающие выбор именно таких состояний протонирования? Делались ли попытки рассчитать альтернативные МД траектории, но с другими состояниями протонирования? Что при этом изменяется?
3. Не замечание, а комментарий: хочется пожелать автору продолжить работу с этой системой и рассмотреть собственно процессы перехода протона в водородных связях (вероятно, уже не во всем полуканале сразу, а в его более низкомолекулярных фрагментах по отдельности).

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 химических наук,
профессор, заведующий кафедрой физической органической химии
Института химии Санкт-Петербургского государственного университета
Толстой Петр Михайлович

20.02.2025

(дата)

Контактные данные:

Тел.: +7(812)3636722, e-mail: peter.tolstoy@spbu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 1.4.4 – Физическая химия (химические науки)

Адрес места работы: 198504, Санкт-Петербург, г. Петергоф, Университетский пр., д. 26.

Институт химии Санкт-Петербургского государственного университета.

Тел.: +7(812)3636722, e-mail: peter.tolstoy@spbu.ru

Подпись сотрудника

СПбГУ П.М. Толстого удостоверяю:

П.М.

И.о. начальника
отдела кадров № 3
И.И. Ковалюк
(ФИО)

Текст документа размещен
в открытом доступе
на сайте СПбГУ по адресу
<http://spbu.ru/ru/press/press.html>

Документ подготовлен
в порядке исполнения
5
трудовых обязанностей