

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию на соискание ученой
степени кандидата физико-математических наук**

Ивонцина Леонида Андреевича

**на тему: «Молекулярно-динамическое моделирование протонных
полуканалов бактериальной FoF1-АТФсинтазы»**

**по специальности 1.5.8. «Математическая биология, биоинформатика»
(физико-математические науки)**

Актуальность темы

Исследование механизма работы FoF1-АТФ синтазы представляет собой важную задачу в области биофизики, биоинформатики и молекулярной биологии. Данный фермент является ключевым элементом энергетического обмена клеток, обеспечивая синтез аденозинтрифосфата (АТФ) за счет энергии трансмембранной разности электрохимических потенциалов протона. Несмотря на значительное количество экспериментальных данных, молекулярный механизм протонного транспорта через мембранный субкомплекс Fo АТФ синтазы остаются предметом дискуссий. В связи с этим применение методов молекулярно-динамического моделирования позволяет существенно продвинуться в понимании структуры и функционирования фермента. Таким образом, диссертация Л.А.Ивонцина направлена на решение фундаментальной проблемы молекулярной биофизики, что подчеркивает ее высокую научную значимость.

Протон-транспортирующий субкомплекс Fo бактериальной АТФ-синтазы является перспективной мишенью для разработки новых антибиотиков, направленных на ингибирование энергетического метаболизма патогенных бактерий. Нарушение работы Fo-субкомплекса ведет к истощению АТФ в бактериальной клетке, что делает его привлекательным объектом для

антимикробной терапии. В последние годы ведутся активные исследования по поиску соединений, способных селективно ингибировать работу Fo-субкомплекса без значительного воздействия на митохондриальную АТФ синтазу человека. В этом контексте молекулярно-динамическое моделирование является мощным инструментом для скрининга потенциальных ингибиторов, так как позволяет прогнозировать связывание молекул-кандидатов с ключевыми аминокислотными остатками протонных полуканалов, оценивать их влияние на гидратацию и конформационную подвижность критически важных элементов фермента.

Таким образом, исследование, выполненное автором, имеет не только академическое значение, но и прикладные перспективы в биомедицине и фармакологии.

Степень обоснованности и новизна положений, выносимых на защиту.

Диссертационная работа Л.А.Ивонцина содержит глубокий анализ структуры FoF₁-АТФ синтазы, выполненный на основе криоэлектронной микроскопии, моделей твердых сфер и молекулярно-динамических расчетов. Автором предложены и обоснованы новые подходы к изучению структуры и гидратации протонных полуканалов, проведен мутационный анализ ключевых аминокислотных остатков, участвующих в протонном транспорте. Проведенные автором молекулярно-динамические симуляции позволяют предположить, что мутации аминокислотных остатков *aArg210*, *aGlu219*, *aHis245*, *aAsn214* и *aGln252* АТФ синтазы кишечной палочки приводят к изменению путей переноса протонов через мембранный субкомплекс Fo, что существенно влияет на эффективность работы фермента.

Методологический аппарат работы включает широкий спектр современных методов компьютерного моделирования, таких как алгоритм DBSCAN для кластеризации молекул воды, анализ радиуса инерции и поверхности, доступной для растворителя (SASA), а также исследование внутримолекулярных водородных связей (Hbond). Полученные результаты сопоставлены с экспериментальными данными и интерпретированы с высокой степенью точности, что свидетельствует о научной обоснованности выводов.

Достоверность и практическая значимость результатов

Достоверность результатов обеспечивается использованием проверенных методов молекулярной динамики и валидированного программного обеспечения (Dowser++, VMD, CHARMM-GUI). Автор провел статистический анализ распределений молекул воды и их взаимодействий с аминокислотными остатками фермента, что позволило минимизировать возможные артефакты моделирования. Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных данных для разработки ингибиторов АТФ синтазы, что имеет потенциал в области антибактериальной терапии.

Структура работы

Диссертация построена по классической схеме, состоит из введения, четырех глав и заключения. текст содержит 161 страницу и включает 58 рисунков, 4 таблицы, 214 источников литературы. Обзор литературы произвел на меня очень хорошее впечатление: нет сомнений, что автор глубоко и детально проработал большой объем научной литературы по АТФ синтазе и сумел представить его в виде логически стройного, написанного грамотным академическим языком текста. Здесь же можно отметить и практически полное отсутствие опечаток и грамматических

ошибок в диссертации, что также производит хорошее впечатление и свидетельствует о большой и тщательной работе автора по написанию и оформлению текста.

Замечания и пожелания

1. Автор провел большой объем молекулярно-динамических симуляций АТФ синтазы кишечной палочки в липидных мембранах с разным содержанием кардиолипина. Однако, насколько мне известно, для АТФ синтазы кишечной палочки нет экспериментальных данных, указывающих на влияние содержания кардиолипина в мембране на эффективность и скорость протонного транспорта. Более того, экспериментально показано, что скорость синтеза АТФ ферментом кишечной палочки может превышать 100 молекул АТФ на молекулу фермента в секунду в липосомах, вообще не содержащих кардиолипина. На мой взгляд, было бы более интересно и информативно вместо вариации липидного состава мембраны провести молекулярно-динамические симуляции для АТФ-синтаз из других организмов (например, из термофильной бактерии *Bacillus* sp. PS3, а также из митохондрий млекопитающих). Это, возможно, позволило бы сделать выводы о степени консервативности расположения связанных молекул воды в протонных полуканалах фермента из разных организмов.
2. В работе “On the Role of Arg-210 and Glu-219 of Subunit a in Proton Translocation by the *Escherichia coli* FoF1-ATP Synthase” Valiyaveetil, Francis I. et al. JBC, V. 272, 51, 32635 - 32641 показано, что замена консервативного остатка *a*Arg210 на аланин (но не на лизин) приводит к появлению пассивной протонной проводимости через АТФ-синтазу кишечной палочки. В разделе 4.3.1. диссертации

указано, что как замена *aArg210Ala*, так и замена *aArg210Lys* приводили к образовыванию непрерывного единого трансмембранного канала, заполненного мобильными молекулами воды (Рисунок 4.6 диссертации). Если для замены *aArg210* на аланин этот результат согласуется с экспериментальными данными, то для замены на лизин этого сказать нельзя. На мой взгляд, этот момент следовало бы более детально обсудить в диссертации и предложить возможные объяснения такому результату.

3. Раздел Выводы (стр. 135-136 диссертации), на мой взгляд, можно было бы написать лаконичнее. Отчасти громоздкость выводов связана с тем, что в них повторяются результаты работы (“установлена последовательность полярных аминокислотных остатков и молекул воды...”, “во входном полуканале определены области локализации трех структурных кластеров молекул воды...”, “обнаружены устойчивые пространственные положения боковых групп существенных аминокислот (*aAsn214*, *aGln252*) α -субъединицы, обозначенные как SP1, SP2, SP3.” и т.п.).

Вместе с тем, 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 биологических наук,
заместитель директора Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Фенюк Борис Александрович



подпись

2 Дата подписания

Контактные данные:

Тел.: +7(495)9393107, e-mail: feniouk@belozersky.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.01.04 – Биохимия, 03.01.02 – Биофизика (биологические науки)

Адрес места работы: 119991, г. Москва, ул. Ленинские горы 1, стр. 40.

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.