

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Васюченко Екатерины Павловны
на тему: «Исследование молекулярных механизмов антимикробного
действия метиленового синего методами компьютерного
моделирования»
по специальности 1.5.2. – «Биофизика»**

Инфекционные заболевания, от которых ежегодно страдает более 2 миллиардов человек, остаются в числе ведущих причин смертности. Среди широкого спектра инфекционных заболеваний вирусные инфекции выделяются высокой контагиозностью и скоростью распространения, часто принимают характер эпидемий или пандемий. Разработка эффективных лекарственных средств и способов профилактики распространения инфекционных заболеваний являются приоритетными задачами биологии и медицины и не перестают быть в центре внимания исследователей.

Компьютерное моделирование, предоставляя информацию о структурной динамике, которую трудно наблюдать экспериментально, хорошо подходит для изучения механизмов взаимодействий вирусных гликопротеинов с мембранами клеток, конформационных изменений белков при слиянии мембран и проникновении вируса в клетку. Применение методов компьютерного моделирования может быть чрезвычайно полезно при разработке соединений с противовирусными свойствами, в том числе для оценки активности таких соединений и определения мишеней противовирусного действия. Диссертационное исследование Екатерины Павловны Васюченко посвящено разработке подходов к моделированию взаимодействий положительно заряженных молекул противовирусных соединений с оболочками коронавируса и флавивирусов, возбудителей опасных социально-значимых заболеваний, таким образом, актуальность темы диссертации не вызывает сомнений.

Диссертационная работа включает введение, четыре главы, включая обзор литературы и три главы экспериментальных исследований, а также заключение с выводами, список сокращений и список литературы, состоящий из 209 наименований. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста, содержит 27 рисунков и 8 таблиц.

Структура и содержание автореферата полностью соответствуют диссертационной работе.

Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цели и задачи работы и положения, выносимые на защиту, описаны степень разработанности проблемы, теоретическая и практическая значимость исследования, его научная новизна, личный вклад автора и степень достоверности полученных результатов.

В главе 1 приведен качественный обзор современной литературы, раскрывающий роль методов молекулярного моделирования в задачах поиска лекарственных препаратов и изучения вирусных структур, современные достижения в исследованиях строения и функционирования коронавирусов и флавивирусов, являющихся объектами компьютерных экспериментов. Подробно описаны физико-химические свойства метиленового синего, соединения с широко известными терапевтическими свойствами, на котором автором отрабатывались подходы к моделированию взаимодействий противовирусных соединений с оболочками вирионов и рядом вирусных структур. Обзор литературы полно и хорошо изложен, практически не вызывает замечаний.

В главе 2 изложена методология создания крупнозернистых и полноатомных моделей молекул противовирусных соединений, метиленового синего и производного фталоцианина, описаны созданные Васюченко модели оболочек двух флавивирусов, а также использованные в работе модели оболочки коронавируса и его S и E белков. Подробно описаны методология броуновской динамики, молекулярной динамики, применение метода отбора зонтичных проб, крупнозернистых и полноатомных симуляций. Изложение

раздела «Материалы и методы» свидетельствует о глубоком понимании автором сути и особенностей применения методов компьютерного моделирования к задачам работы.

В главах 3 и 4 приведены собственно результаты диссертационного исследования. Глава 3 посвящена изучению взаимодействия метиленового синего с оболочкой коронавируса SARS-CoV-2, в том числе с целой оболочкой и ее компонентами, S и E белками. Автором обнаружен гетерогенный характер распределения электростатического потенциала на поверхности оболочки коронавируса и выявлены структуры, участвующие в формировании отрицательно заряженных областей электростатического потенциала и связывании молекул метиленового синего. Однако, на пути дальнейшего проникновения метиленового синего через мембрану коронавируса наблюдался высокий энергетический барьер в середине фосфолипидного бислоя. Одной из структур оболочки коронавируса, электростатически связывающей молекулы метиленового синего, оказались виropорины, которые преимущественно экспрессируются внутри клетки и участвуют в сборке новых вирусных частиц на мембранах ERGIC. Автору удалось показать, что помимо электростатических взаимодействий с отрицательно заряженными аминокислотными остатками на входе в канал, при транслокации метиленового синего через канал виropорина наблюдается глобальный минимум энергии в центре канала, который достигается за счет многочисленных π - π взаимодействий с 15 остатками фенилаланина. Этот результат представляет несомненный интерес в свете того, что виropорины рассматривают в качестве потенциальных мишеней для противовирусных препаратов, и разработанный автором подход может быть полезен в скрининге таких соединений.

В главе 4 описаны созданные автором молекулярные модели белковых оболочек вируса Зика и вируса денге и результаты компьютерных симуляций взаимодействия с ними метиленового синего. Как и в случае коронавирусов, составлена полная карта контактов метиленового синего с оболочками

флавивирусов и охарактеризованы конкретные структуры, отвечающие за связывание. Найдены различия в связывании метиленового синего с оболочками двух флавивирусов. Так, метиленовый синий образует значительное количество контактов с петлей белка оболочки вируса денге, опосредующей первичное узнавание гликозамингликанов при связывании вирусов с клетками, но не с гликановой петлей, которая закрыта от электростатических взаимодействий с молекулами метиленового синего областью положительного потенциала. Напротив, в белке оболочки вируса Зика область отрицательного потенциала, окружающая гликановую петлю, которая участвует в процессе слияния мембран при заражении вирусом клеток, эффективно притягивает молекулы метиленового синего. Важным следствием из этих результатов является то, что различия в распределении электростатического потенциала вокруг белков оболочек флавивирусов определяет доступность их функциональных петель для электростатических взаимодействий с противовирусными соединениями. Автор справедливо замечает, что ингибирование функций ГАГ-связывающей и гликановой петель Е белков флавивирусов является перспективной стратегией в противовирусной терапии.

В разделе «Заключение» автор анализирует полученные в работе результаты компьютерных экспериментов, сопоставляя их с экспериментально полученными другими авторами эффектами. На основании полученных результатов выдвигаются возможные механизмы известного противовирусного действия метиленового синего.

Все полученные в работе научные результаты являются новыми и достоверными, опираются на глубокий анализ литературы, известные экспериментальные данные. В работе использованы современные методы компьютерного моделирования и методики выполнения вычислительных экспериментов, соответствующие поставленным задачам. Достоверность результатов выполненной работы подтверждается публикацией 5 статей в рецензируемых журналах и сборниках, индексируемых в базах данных Web of

Science, Scopus и RSCI, докладами на семинарах и конференциях. Положения, выносимые на защиту, и сформулированные по результатам работы научные выводы полностью обоснованы.

Несмотря на высокую оценку работы, к ней есть ряд замечаний и пожеланий:

1. При моделировании взаимодействий метиленового синего с оболочкой коронавируса и, особенно, с S белками было бы полезно проанализировать связывание с несколькими мутантными вариантами SARS-CoV-2 с известным строением гликопротеинов оболочки;

2. Автор, ссылаясь на источники, пишет, что проводимость канала E белка зависит от общего заряда липидов мембраны клетки хозяина. Очевидно, было бы целесообразно создать модели мембран с различным составом и зарядом липидов с встроенными виropоринами и в таких системах изучить проводимость каналов и связывание метиленового синего.

3. Помимо контактов с ГАГ-связывающей и гликановой петлями E белков флавивирусов метиленовый синий, как следует из полученных данных (рис. 4.2.2. в диссертации), образует ряд контактов с другими аминокислотными остатками, однако, эти контакты не обсуждаются.

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 1.5.2. «Биофизика» (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. Диссертационное исследование оформлено 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 Васюченко Екатерина Павловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. «Биофизика».

Официальный оппонент:

ДОКТОР биологических наук,
главный научный сотрудник Института биофизики клетки Российской академии наук (ИБК РАН),
обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН)

ЧЕМЕРИС Николай Константинович

13.11.2025 г.

Контактные данные:

тел.:

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:
03.00.02 – Биофизика

Адрес места работы:

142290, г. Пущино Московской области, ул. Институтская, 3, ИБК РАН
Тел.: 7(4967)739314, e-mail:

17.11.2025

Подпись сотрудника ИБК РАН Чемериса Н.К. удостоверяю:
Ученый секретарь
Института Биофизики
к.б.н. К.С. Шевкунов