

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук
Федуловой Анастасии Сергеевны
на тему: «Исследование механизмов динамики ДНК-гистоновых
комплексов методами молекулярного моделирования»
по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика**

Работа Анастасии Федуловой посвящена МД моделированию нуклеосомных частиц и связанных с ними биомолекулярных систем (например, тетрасом, отдельных димеров белков-гистонов и т.д.). Нуклеосомная частица является базовым элементом хроматина и в этом качестве играет архиважную роль в фундаментальной биологии и биомедицине. При этом многие аспекты функциональной динамики нуклеосом остаются слабо охарактеризованными или вовсе неясными. Эти обстоятельства обуславливают актуальность избранной темы. Результаты, полученные в представленной работе, опубликованы в первоклассных научных журналах, включая Nature Communication и NAR, что само по себе является подтверждением высокого уровня работы. Чтение этих статей и диссертационной работы как таковой оставило у меня самое благоприятное впечатление: материал изложен ясно, логично, аргументированно, данные обработаны на высоком профессиональном уровне и представлены в наглядной, удобной для восприятия форме. В этом отношении обоснованность основных выводов диссертации (в том числе положений, выносимых на защиту) не вызывает сомнений. Детальное и всестороннее представление результатов в диссертационной работе позволяет судить об их внутренней самосогласованности и соответствии известным экспериментальным фактам, что свидетельствует о достоверности полученных автором данных. Наконец, из ознакомления со статьями и диссертационной работой я почерпнул для себя

массу нового, что несомненно говорит в пользу новизны рассматриваемой работы.

В тексте отзыва я буду адресоваться к главам, описывающим основные содержательные результаты диссертационной работы.

Глава 3 включает в себе анализ данных полученных на основе длинных (до 15 мкс) МД траекторий нуклеосомной частицы. На момент выхода в свет статьи (2021 г.) такая длина траектории на порядок величины превосходила всё, что было опубликовано в литературе. Траектория была подвергнута тщательному анализу на предмет динамических эффектов, которые не поддаются наблюдению на основе рентгеноструктурных данных. Например, это относится к подвижным гистоновым хвостам, где автором было обнаружено, что остатки аргинина в составе гистоновых хвостов взаимодействуют преимущественно с малой бороздкой ДНК, тогда как остатки лизина взаимодействуют и с малой, и с большой бороздкой. В диссертационной работе детально описаны эффекты откручивания ДНК, скольжения ДНК по поверхности гистонового кора (следствие изначального структурного "дефекта", состоящего в чрезмерной закрученности укороченной двухнитевой цепочки ДНК), а также связывания пептида SENP-C с гистоновым кором. На момент публикации было известно, что МД моделирование способно воспроизводить эффекты скольжения и откручивания ДНК. Однако, полученное автором детальное описание (включая, например, роль т.н. H3-застёжки) представляют значительную ценность. В ретроспективе, пожалуй, можно утверждать, что полученные таким образом данные рисуют во многих отношениях качественную скорее чем количественную картину динамики в нуклеосомной частице. В особенности это относится к кинетическим параметрам, т.к. есть основания думать, что сочетание силовых полей Amber ff14sb и parambsc1 с моделью воды TIP3P (с поправками CUFIX) не позволяют точно воспроизводить временные масштабы такого рода динамических процессов.

Глава 4 посвящена исследованию внутренней динамики гистонового димера H2A/H2B. В первом приближении H2A/H2B можно рассматривать как структурированный димер в составе гистонового кора. Однако при этом можно предположить, что конформационная пластичность H2A/H2B оказывает некоторое влияние на функциональные свойства нуклеосомы. К примеру, авторы ссылаются на то, что встроенный в структуру H2A/H2B дисульфидный мостик приводит к определённым изменениям в свойствах нуклеосомы (в связи с этим хотелось бы отметить, что появление дисульфидного мостика скорее всего приводит к небольшим структурным изменениям в H2A/H2B, что, вероятно, и является причиной наблюдаемых изменений в свойствах; вообще говоря, стоило бы сделать этот вопрос предметом отдельного исследования с помощью МД моделирования). С целью исследовать вопрос о конформационной пластичности H2A/H2B автор провела МД моделирование свободного димера H2A/H2B, аналогичного димера в комплексе с фрагментом ДНК, а также H2A/H2B в составе нуклеосомной частицы. Полученные результаты подверглись сравнению с (1) атомными B-факторами из рентгеновских структур и (2) мерой структурной вариативности, определяемой на основе массива рентгеновских структур, а также структур крио-ЭМ. Особенно стоит отметить последнюю метрику (RMSV) – на мой взгляд, это весьма информативный и интересный параметр. Для меня осталось несколько непонятно, почему этот параметр был использован в статье (Kniazeva et al. 2022), однако соответствующие результаты не приводятся в диссертации. В любом случае нужно отметить, что экспериментальная динамика, описываемая параметрами (1-2), заметно отличается от динамики, наблюдаемой в ходе МД моделирования (причём для отдельных элементов структуры наблюдается недооценка динамических амплитуд, а для других элементов – переоценка). Автор отмечает, что такого рода эффект отчасти объясняется различиями в концентрации соли, недостаточной длиной траекторий и т.д. Однако тут, наверное, следует признать, что главной причиной является несовершенство МД как

методологии моделирования, а также несовершенством конкретных силовых полей. Данные МД моделирования были обработаны автором с помощью метода главных компонент (на мой взгляд, это наиболее удачное решение). При этом была выявлена основная форма динамики, в ходе которой две спирали $\alpha 2$ движутся на манер двух половинок ножниц. В ходе отдельного исследования авторы предположили, что такого рода динамика играет определённую роль при накручивании ДНК на нуклеосому (re-wrapping), а также при проскальзывании ДНК по поверхности нуклеосомы. В отсутствие экспериментальных данных, вряд ли эти выводы можно считать доказанными, но они безусловно представляют собой хорошо обоснованную и значимую гипотезу, которую можно отнести к числу наиболее интересных результатов диссертационной работы.

Глава 5 дополнительно исследует эффект от замены белка-гистона одного организма на аналогичный белок-гистон от другого организма. В рамках этой работы был рассмотрен димер H2A.Z/H2B (где H2A.Z – это одна из изоформ гистона человека, а H2B – гладкой шпорцевой лягушки). Тут можно задаться вопросом: а зачем была выбрана такая необычная химера? Как я понимаю, в литературе существуют данные о том, что две мутации, отличающие H2A.Z от H2A, влияют на стабильность нуклеосомы, а также её взаимодействие с фактором SWR1. Автору действительно удалось обнаружить стабилизацию N-концевого участка спирали $\alpha 2$ в H2A.Z/H2B по сравнению с H2A/H2B. Однако трудно сказать, в какой мере именно этот эффект, выявленный при анализе МД траектории, связан с экспериментальными результатами. В этой связи следует принять во внимание, что переход от H2A/H2B к H2A.Z/H2B влечёт за собой некоторые (небольшие) изменения в структуре димера, как это проиллюстрировано в диссертационной работе. Также нужно отметить, что различия между H2A и H2A.Z не ограничиваются двумя аминокислотными заменами, которые обсуждаются в работе.

Сходное исследование было также выполнено в отношении варианта H2A.J, где был исследован эффект стабилизирующей мутации S40A. Данные МД моделирования показали, что мутация может приводить к конформационным изменениям в петле L1. При этом сложно сказать, в какой мере конформация петли L1 связана с повышением термостабильности нуклеосомной частицы. В принципе, любопытно было бы прямо исследовать эффект мутации на стабильность нуклеосомы, нагревая ячейку моделирования (скажем от 50 до 80 °С) на протяжении моделирования (скажем, 10 мкс). По-видимому, вероятность воспроизвести искомый эффект невелика, но тем не менее такое исследование, как мне кажется, представляло бы интерес.

Глава 6 основывается на результатах, опубликованных недавно в великолепной статье (Shi, Fedulova и др. NAR, 2025). Данное исследование посвящено так называемым тетрасомам (т.е. частицам, которые получаются из нуклеосом после потери димеров H2A/H2B, играющим важную роль в процессе транскрипции генов). Работа, выполненная в сотрудничестве с зарубежными коллегами, содержит первоклассный массив экспериментальных данных, включая различные данные FRET, данные экспериментов по расщеплению ДНК нуклеазой, по транскрипции нуклеосомной ДНК, а также данные, полученные методом ЯМР спектроскопии в растворе и в твёрдом теле. МД моделирование тетрасомы, выполненное автором диссертационной работы, показывает ожидаемое увеличение конформационной лабильности в тетрасоме. При этом, пожалуй, следует отметить следующее: некоторые из наблюдаемых в МД модели эффектов ожидаемы (в некотором смысле "неизбежны") и без сомнения соответствуют действительности. К таким эффектам следует отнести откручивание ДНК и повышение динамики редуцированного гистонового кора (в составе двух копий H3 и H4). В частности, обнаруженная автором в гистоновом коре динамическая мода "пакман" (ср. название популярной компьютерной игры конца 80-х – начала 90-х годов) скорее всего

действительно присутствует в тетрасоме. Что же касается других наблюдаемых эффектов, связанных с частичной утратой структуры при переходе от нуклеосомы к тетрасоме, то трудно судить о том, в какой мере результаты МД моделирования соответствуют действительности. Во-первых, методология МД в принципе не столь успешно при моделировании разворачивания/сворачивания биомолекулярных систем. Во-вторых, такого рода моделирование предъявляет очень высокие требования к статистике (в данной работе длина траекторий, если я не ошибаюсь, ограничивается 2.5 мкс). В-третьих, используемые параметры моделирования (ff14SB / parambsc1 / TIP3P) не лучшим образом подходят именно для моделирования разупорядоченных элементов структуры. Поэтому часть наблюдений (например, в отношении разупорядоченных гистоновых хвостов) могут слабо коррелировать с фактическим поведением системы (в этой связи показательны отмеченные автором расхождения с МД исследованием Рычкова).

Наконец, в Главе 7 представлены результаты предварительных исследований динамики гистоновых хвостов и их взаимодействий с телом нуклеосомы, полученные с применением следующих параметров силового поля: ff19SB / parambsc1 / OPC. Такого рода систематический анализ безусловно полезен при исследовании функционала хвостов и при подборе параметров силового поля, оптимальным образом подходящих для решения подобных задач.

Подводя итоги, можно сказать, что автором представлен набор эффективных и полезных инструментов (программ) для анализа МД моделей нуклеосомных и подобных им частиц. При этом сделан ряд интересных наблюдений, касающихся структуры и динамики подобных частиц, часть из которых подтверждается экспериментальными данными. Такого рода наблюдения бесспорно являются значимым вкладом в структурную биологию этих важнейших объектов. Можно надеяться, что со временем автору и её коллегам удастся протянуть дополнительные "ниточки" от результатов МД

моделирования к данным различных экспериментальных исследований. В качестве приглашения к размышлению отмечу следующее. В большинстве работ автор обсуждает данные МД моделирования таким образом, как будто речь идёт о реальном физическом объекте (нуклеосоме). На самом деле, следует предположить, что часть эффектов, наблюдаемых в МД траектории, количественно точно соответствует тому, что происходит в реальной системе, ещё часть эффектов воспроизводит реальность на качественном уровне; а остальное вовсе не соответствует действительности (т.е. является артефактом моделирования). Как мне кажется, этот аспект следует постоянно иметь в виду – особенно в том случае, когда прямая экспериментальная проверка получаемых результатов невозможна. В качестве несколько утопического пожелания можно предложить параллельно записывать двойной набор траекторий (например, Amber ff19SB / OPC и CHARMM36m / TIP3P*) и проверять воспроизводимость исследуемых эффектов в подобных траекториях.

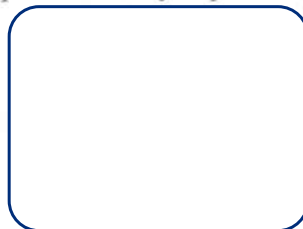
На мой взгляд, диссертант вправе испытывать законную гордость за выполненную ею первоклассную работу. Отдельные сформулированные выше вопросы никак не умаляют значимости полученных результатов. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова 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. 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 Федулова А.С. заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент:


Ph.D., руководитель Лаборатории биомолекулярного ЯМР
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Скрынников Николай Русланович



02.03.2026

Контактные данные:

тел.: , e-mail: n.skrynnikov@spbu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

02.00.04 – физическая химия

Адрес места работы:

199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7–9
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»
Тел.: 7 (812) 325-8736; e-mail: spbu@spbu.ru

Подпись сотрудника ФГБОУ ВО СПбГУ Скрынникова Николая Руслановича
удостоверяю:



Документ
в порядке исполнения
трудовых обязанностей