ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук Кулаковой Анны Михайловны на тему: «Молекулярное моделирование механизмов реакций нуклеофильного присоединения остатков цистеина белков к органическим молекулам» по специальности 02.00.15 – «Кинетика и катализ»

Диссертационное исследование Кулаковой Анны Михайловны посвящено изучению механизмов реакций нуклеофильного присоединения остатков цистеина к органическим молекулам. Данная работа является актуальной, поскольку в качестве объектов исследования выбраны практически важные биологические объекты, такие как малая ГТФаза KRAS с онкогенной мутацией G12C, красные флуоресцентные белки разных классов, бутирилхолинэстераза. Изучение механизмов процессов, происходящих с данными объектами, может дать не только понимание фундаментальной картины мира, но и понимание путей управления подобными реакциями.

Диссертационная работа изложена на 101 странице машинописного текста и содержит введение, 4 главы основной части, выводы и список цитируемой литературы из 139 ссылок, более половины которых датированы последним десятилетием, что также демонстрирует актуальность исследуемой тематики. Диссертация содержит 4 таблицы и 32 рисунка, которые хорошо читаются и качественно иллюстрируют изложенный материал.

Во введении диссертант обосновывает актуальность работы, формулирует цель исследований и определяет задачи. В первой главе содержится литературный обзор, посвященный современным методам молекулярного моделирования. Во второй главе автор изучает применимость метода DFTB для описания исследуемых реакций. В третьей и четвертой главах автор изучает механизмы нуклеофильного присоединения цистеина к органическим молекулам в практически важных белковых системах – красном флуоресцентном белке фитохроме miRFP670 и малой ГТФазе $KRAS^{G12C}$.

По результатам диссертационной работы сделаны следующие выводы:

1. Применение метода КМ/ММ с описанием КМ подсистемы методом функционала электронной плотности с гибридными функционалами позволяет количественно описывать структуры и свойства белковых систем, выбранных в качестве объекта исследований; для качественной оценки возможно использование менее затратного варианта метода в приближении сильной связи DFTB.
2. В результате кинетического контроля реакции присоединения остатка цистеина апо-формы белка miRFP670 к молекуле биливердина основным является ковалентный аддукт с двумя S-C связями.
3. Наблюдаемая зависимость эффективной константы скорости образования ковалентного аддукта соединения ARS-853 с белком $KRAS^{G12C}$ от концентрации соединения обусловлена слабым связыванием и последующей быстрой химической стадией реакции в результате активации двойной связи белком, т.е. реакция необратима и описывается кинетическим контролем.
4. Для корректного сопоставления результатов молекулярного моделирования с макроскопическими наблюдаемыми параметрами исследуемых систем построены полные кинетические схемы и проведено последующее численное решение систем кинетических уравнений.

Представленные положения являются актуальными и хорошо обоснованными, с требуемыми признаками новизны. Уровень используемых в работе методов молекулярного моделирования обеспечивает достаточную точность и достоверность результатов. Полученные в рамках кинетической схемы эффективные кинетические параметры согласуются с экспериментальными данными, что позволяет верифицировать предложенные механизмы. Основные положения диссертационной работы изложены в 4 статьях в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, РИНЦ, а также в 7 тезисах докладов на международных и всероссийских конференциях.

Диссертационная работа написана четко, логично, хорошо оформлена и обладает информативным иллюстративным материалом. Однако к диссертационной работе есть ряд замечаний:

1. Несколько спорно утверждение, что именно в данной работе впервые показано, что DFTB не дает количественной оценки свойств молекулярной модели – это достаточно очевидный и давно известный факт.
2. Нахождение равновесных геометрий методом DFTB/MM для систем бутирилхолинэстеразы и красных флуоресцентных белков проводилось в разных программных пакетах. С чем это связано? Не объясняет ли использование другого программного пакета «неадекватность описания поведения молекулы воды в системе mRojoA-YChroY в области хромофора при отсутствии в КМ-подсистеме аминокислотных остатков Thr179 и Tyr181, образующих дополнительные водородные связи» (Стр. 32).
3. С точки зрения классических воззрений, энергии активации переходных состояний TS1 и TS2 в реакции связывания KRAS (т.е. нуклеофильная атака и протонирование стабилизированного аниона), рис.7 автореферата, должны, по идее, находиться в обратной зависимости (первая больше второй). Расчет дает соотношение TS1:TS2=1:4, что требует более детального объяснения либо экспериментального подтверждения.
4. В главе 3 следует разъяснить, что такое реакционноспособная конформация для каждого из анализируемых путей образования ковалентного аддукта.
5. По опыту молекулярной динамики аналогичных систем, более точной динамической надстройкой над классическим докингом был бы не H-REUS, а FEP (Free Energy Perturbation), что позволяет интегрировать (рассматривать недискретно) процесс нековалентной координации с учетом полной энергии комплекса. Правда, это требует существенно больших вычислительных мощностей, чем H-REUS.
6. Название раздела 4.2.2 «Молекулярное моделирование стадии нековалентного связывания соединения ARS-853 с $KRAS^{G12C}$» требует

пояснений, почему для анализа связывания рассматривается обратный процесс диссоциации комплекса.

Вместе с тем, высказанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования.

Еще один момент, не относящийся к недостаткам (с учетом специализации диссертации), скорее, перспектива применения: отличное выполнение задачи данного диссертационного исследования механизмов реакций ставит вопрос о направленном синтезе практически важных структур. В теоретическом плане используемые кинетические модели можно применить для моделирования механизмов катализа природными белками, например, дильс-альдеразами. В практическом это вполне могут быть метки с активными центрами, не затрагивающими сайт связывания субстратов (а координаты сайта определены в работе достаточно точно); в диссертационной работе этот вопрос затронут, о флуоресцентных метках. На основе кинетического анализа механизма – синтез новых потенциально противораковых препаратов, более комплементарных к KRAS ингибиторов.

Диссертационная работа Кулаковой Анны Михайловны на тему «Молекулярное моделирование механизмов реакций нуклеофильного присоединения остатков цистеина белков к органическим молекулам» отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 02.00.15 – «Кинетика и катализ» (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 приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Кулакова Анна Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 02.00.15 – «Кинетика и катализ».

Официальный оппонент:

Доктор химических наук,
Ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярного моделирования и направленного синтеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

Свитанько Игорь Валентинович

18.11.2019

Контактные данные:

Адрес места работы: 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинский проспект, д. 47.

тел.: 7(499)137-87-09, e-mail: svitanko@ioc.ac.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 02.00.03 – Органическая химия

Подпись сотрудника Института органической химии им. Н.Д.Зелинского РАН Свитанько Игоря Валентиновича удостоверяю:

Ученый секретарь ИОХ РАН И.К.Коршевец
18.11.2019