

Отзыв официального оппонента на диссертационную работу
Макаровой Татьяны Михайловны
«Исследование аллостерических явлений в бактериальной рибосоме
методом молекулярно-динамического моделирования»

представленной на соискание ученой степени
кандидата химических наук
по специальности 02.00.10 — биорганическая химия

Трансляция является одним из фундаментальных процессов, изучаемых молекулярной биологией. Несмотря на то, что этот процесс изучается уже более полувека, в нем остаются не изученными целый ряд аспектов и многие детали механизма трансляции еще не до конца поняты. В частности, не очень понятны механизмы дальних взаимодействий, например, таких, как влияние состояния Е-сайта на доступность А-сайта, или зависимость эффективности трансляции от транслируемого пептида. В представленной диссертации для ответа на эти вопросы применялись методы молекулярной динамики.

Представленная диссертация построена по почти стандартной схеме. Единственное отличие – раздел методов отнесен в конец работы. Работа открывается введением, где формулируются основные цели и задачи работы, положения, выносимые на защиту, а также приведен ряд формальных данных о работе.

Во второй главе (на самом деле она должна быть первой, а введение не нумеруется) проводится обзор литературы по проблеме. Описана структура бактериальной, эукариотической и митохондриальной рибосом, перечислены основные этапы процесса трансляции. Далее, описаны структурные особенности и основные взаимодействия рибосомных РНК. Эта часть очень важна для дальнейшего чтения, поскольку здесь вводится номенклатура обозначений структурных элементов, используемая в основном разделе диссертации. Далее приведено достаточно большое количество сведений о возможных аллостерических явлениях в рибосомах. В том числе приведены сведения о потенциальной аллостерической связи между А- и Е-сайтами связывания тРНК, аллосте-

рической регуляции декодирования и отбора антикодона тРНК, аллостерической регуляции пептидилтрансферазной реакции, остановки трансляции растущим пептидом и другие. К аллостерическим явлениям отнесены также мутации, которые могут влиять на события в достаточно удаленных областях. Мне кажется, что отнесение мутаций к аллостерическим явлениям достаточно смелым, впрочем это вопрос вкуса.

Основная часть работы изложена в главе три – «Результаты и их обсуждение». Условно главу можно разделить на несколько разделов – структура и взаимодействие А- и Е-сайтов, мутации и их влияние на трансляцию, влияние транслированных пептидов на эффективность трансляции и, наконец, предположительный механизм воздействия антибиотиков, связывающихся в рибосомном туннеле, на А-сайт.

Сравнение результатов молекулярно-динамического моделирования для двух состояний (АР и РЕ) показало механизм аллостерического взаимодействия А и Е сайтов. Хотя в этой работе рассматривалась рибосома из *E.coli* был проведен анализ консервативности замен. Это позволяет говорить о том, что полученные результаты относятся не только к рибосоме из конкретного организма, но имеют гораздо более общий характер. В частности, было показано, что переход от прокариотической рибосомы к эукариотической сохраняет основные особенности. С другой стороны отмечено, что у термофилов механизмы взаимодействий по-видимому несколько меняются.

В работе был изучен механизм влияния мутаций на элонгацию трансляции. В частности была изучена мутация, находящаяся на расстоянии 50 ангстрем от Р-сайта. Было показано как эта мутация может влиять на эффективность фиксации тРНК на рибосоме, изменяя межспиральные контакты. Такое влияние оказалось существенным благодаря тому, что рибосома весьма плотно упакована.

В диссертации рассмотрено также как короткие стартовые пептиды могут ингибировать трансляцию. Рассмотрено два пептида. Продемонстрирован механизм ингибирования, который использует антагонизм АР и РЕ состояний.

В работе было рассмотрено действие двух типов антибиотиков, связывающихся в рибосомном туннеле – эритромицина и хлорамфеникола. Молекулярное моделирование показало, что связывание эритромицина оказывает не только локальное влияние на структуру рибосомы. Про взаимодействие рибосомы с хлорамфениколом ситуация сложнее, поскольку есть несколько потенциальных сайтов связывания. Моделирование показало, что этот антибиотик также сильно меняет важные элементы структуры рибосомы.

В последней главе достаточно подробно описаны основные использованные методы и параметры использованных программ.

Диссертация завершается выводами, которые кратко суммируют полученные результаты. Результаты достаточно полно опубликованы в рецензируемых журналах, индексируемых в Scopus и WoS. Автореферат адекватно отражает содержание диссертации.

По работе можно сделать следующие замечания:

1. Обычно введение и выводы не нумеруются как отдельные главы.
2. В работе есть некоторое количество опечаток и стилистических шероховатостей, что, впрочем, не мешает пониманию.
3. Рис.2.6. Чтобы понять, что РТС на рисунке и ПТЦ в подписи – одно и то же, требуются некоторые интеллектуальные усилия. Стрелку от элемента Q к элементу P, упомянутые в подписи, мне не удалось найти на рисунке, равно как и самих элементов.
4. В работе строился граф связности структуры рибосомы по данным молекулярного моделирования. Было бы интересно увидеть характеристики графа – число вершин и ребер, плотные компоненты, распределения степеней вершин и пр., а также увидеть хотя бы его фрагмент, а также изменения в этом графе при переходе между состояниями.

5. На рис. 3.14 приведен анализ главных компонент потенциальных энергий взаимодействий. Здесь хотелось бы больше деталей – пространство, в котором ищались компоненты, состав первой главной компоненты (какие взаимодействия дают наибольший вклад).

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 паспорту специальности 02.00.10 — биоорганическая химия, 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 Макарова Татьяна Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 — биоорганическая химия.

Профессор факультета
биоинженерии и биоинформатики
МГУ, доктор биологических наук,
кандидат физ.-мат. наук, профессор

А.А.Миронов

