

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук Гольшева Виктора
Михайловича на тему: «РАЗВИТИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ
ПОДХОДОВ ДЛЯ РАЦИОНАЛЬНОГО ДИЗАЙНА НОВЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ»

по специальности 1.3.17 – Химическая физика, горение и взрыв,
физика экстремальных состояний вещества

Диссертационное исследование Гольшева Виктора Михайловича посвящена разработке методов эффективного рационального дизайна производных нуклеиновых кислот для использования в «антисенс» подходах в диагностике и контролю экспрессии нуклеиновых кислот. Это направление является очень актуальным для исследований так и для медицинского применения, учитывая, что именно массовая диагностика коронавирусной инфекции выполняется с помощью модифицированных красителем коротких олигонуклеотидов методом ПЦР. Ключевым этапом любого ПЦР цикла является гибридизация олигонуклеотидов на матрице. Рациональный дизайн олигонуклеотидов для эффективной гибридизации позволяет тонко настраивать чувствительность и селективность метода ПЦР. Модифицированные олигонуклеотиды используются не только в диагностике методом ПЦР, но и в качестве узнающих элементов в сложных системах детекции. Необходимо указать и на терапевтический потенциал модифицированных олигонуклеотидов для подавления экспрессии любого гена, именно для такого применения важно выдержать тонкий баланс в свойствах олигонуклеотида, который невозможен без точного описания процесса гибридизации олигонуклеотида. Современные подходы расчеты

термодинамических параметров гибридизации зачастую опираются на грубые модели не учитывающих пространственное строение олигонуклеотида. Разработка новых подходов к рациональному дизайну производных нуклеиновых кислот безусловно является актуальной задачей.

Вынесенные на защиту положения адекватно отражают цель исследования и задачи сформулированные Голышевым В.М..

Научная новизна работы характеризуется разработкой нового метода экспериментального определения достоверных величин термодинамических параметров комплексообразования, также формирования отдельных структурных элементов тандемных комплексов коротких низкостабильных комплексов НК и их производных. Получены новые данные об структуре и термодинамических свойствах комплексов глицинморфолиновых пентааденилатов с ДНК и РНК, физико-химических свойствах комплексов фосфорилгуанидиновых олигонуклеотидов с ДНК. Термостабильность фосфорилгуанидиновых олигонуклеотидов комплексов незначительно увеличивается при уменьшении ионной силы раствора. Установлено, что введение фосфорилгуанидиновых модификаций не изменяет форму двойной спирали, повышает подвижность цепи, а изменение сольватации является наиболее вероятной причиной изменения термостабильности комплексов. Предложен новый подход к расчету гибридизационных параметров на основе моделирования молекулярной динамики. Систематическое исследование библиотеки дуплексных комплексов позволяет утверждать, что возможен достоверный расчет энтальпии комплексообразования на основе подхода MMGBSA. Ошибка расчета сопоставима с величиной экспериментальной ошибки и составляет 8%. Оценку гибридизационных свойств дуплексов фосфорилгуанидиновых олигонуклеотидов и глицинморфолиновых пентааденилатов с ДНК и РНК можно проводить на качественном уровне.

Выводы сделанные в работе обоснованы и опираются на результаты исследований Голышева В.М. Теоретическая значимость работы подтверждается точностью результатов расчётов сравнимой с экспериментальными данными. Практическая значимость работы состоит в разработке новых экспериментальных и вычислительных подходов и их интеграции для построения непротиворечивого атомистического представления процессов образования дуплексных комплексов модифицированных олигонуклеотидов.

Текст диссертации построен по классической схеме: обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение. Обзор литературы детально отображает состояние методов анализа свойств модифицированных олигонуклеотидов, по моему мнению не достаточно освещены проблемы терапевтического применения модифицированных олигонуклеотидов и как данная работа, могла бы продвинуть применение модифицированных олигонуклеотидов в клинике. Автор отмечает точные методы расчёта энергии образования дуплексов указывая на их вычислительную сложность и выбирает исключительно доступные методы. Хотелось бы увидеть детальное обсуждение всех доступных инструментов. В целом обзор полностью отражает методы и объекты используемые в работе. Сформулированные цели и задачи достаточно подкреплены сделанным обзором.

Описание результатов работы разбиты на три основных части: исследование глицинморфолиновых пентааденилатов, фосфорилгуанидиновых олигонуклеотидов и сравнительное молекулярное моделирование и разработка предсказательной модели для расчетов термодинамических параметров комплексообразования фосфорилгуанидин

олигонуклеотид/ДНК дуплексов. В качестве сравнительного исследования приведено разработка подхода по предсказательному моделированию на основе моделирования молекулярной динамики для вычисления энергии образования гетеродуплексов нативных нуклеиновых кислот. Результаты изложены полно и обсуждены подробно. Тем не менее некоторые моменты остались не понятны, автор указывает на нейтральность фосфорилгаунидиновой группы, но хотелось бы прочесть объяснение этому факту, общепринято считать, что гуанидиновая группа заряжена положительно. Из мелких недостатков работы надо отметить наличие англицизмов и неточностей.

Анализ сольватационного окружения (Рисунки 19,20 и 37) представлен по моему мнению неудачно, функция радиального распределения плотности позволяет численно анализировать водное окружение групп интереса. Автор представил плотность воды на трехмерной визуализации, где достаточно трудно разобрать детали сольватации остова олигонуклеотидов.

Анализ сходимости моделирования с использованием MMGBSA, рисунок 50, приведен только изменения энтальпии, в то время кажется, что важным является оценка сходимости значений изменения свободной энергии. Интересным было бы посмотреть и на критерии сходимости моделирования молекулярной динамики, по моему мнению, описание значений RMSD не является информативным.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.3.17 –

Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Таким образом, диссертационная работа Голышева В.М. представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу. Научные положения и выводы автора не вызывают сомнений. Результаты оригинальны, достоверны и отличаются практической значимостью и новизной. Соискатель Голышев Виктор Михайлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 – Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Считаю, что диссертационная работа Голышева Виктора Михайловича “Развитие физико-химических подходов для рационального дизайна новых производных нуклеиновых кислот” соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, в том числе отвечает критериям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в ред. Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 №1539), а ее автор, Голышев Виктор Михайлович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Официальный оппонент:

доктор химических наук,
профессор, факультета биоинженерии и
биоинформатики, федеральное государственное

бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Московский
государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Головин Андрей Викторович



03.03.2022

Контактные данные:

тел.: 7(964)7109158, e-mail: golovin@fbb.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

02.00.10 — биоорганическая химия

Адрес места работы:

119234, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы МГУ 1, стр. 73, Факультет

Тел.: +7 (495) 939-41-95 ; e-mail: bioeng@genebee.msu.ru

Декан факультета

биоинженерии и биоинформатики

академик



 В.И. Скулачев