

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.150.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
ИНСТИТУТА ХИМИЧЕСКОЙ КИНЕТИКИ И ГОРЕНИЯ ИМ. В. В. ВОЕВОДСКОГО
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 30.03.2022, № 10

О присуждении Гольшеву Виктору Михайловичу гражданину Российской Федерации, учёной степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация *«Развитие физико-химических подходов для рационального дизайна новых производных нуклеиновых кислот»* в виде рукописи по специальности 1.3.17 – «химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества» принята к защите 26 января 2022 г., протокол № 3, диссертационным советом 24.1.150.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической кинетики и горения им. В. В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук (ИХКГ СО РАН), Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 630090, г. Новосибирск, ул. Институтская, д. 3, приказ о создании диссертационного совета № 1511/нк-от 25.11.2016 года.

Соискатель, *Гольшев Виктор Михайлович*, 1993 года рождения, на момент защиты диссертации работает в должности младшего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН). В 2021 году соискатель окончил аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (НГУ). С 2014 года В.М. Гольшев работает в ИХБФМ СО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории биомедицинской химии и в лаборатории структурной биологии ИХБФМ СО РАН.

Научный руководитель – кандидат физико-математических наук **Ломзов Александр Анатольевич**, заведующий лабораторией структурной биологии ИХБФМ СО РАН.

Официальные оппоненты:

1. **Головин Андрей Викторович**, доктор химических наук, профессор факультета биоинженерии и биоинформатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

2. **Шернюков Андрей Владимирович**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории магнитной радиоспектроскопии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии имени Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской Академии Наук;

дали *положительные отзывы* на диссертацию.

Ведущая организация, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства», в своём **положительном заключении**, подписанном доктором химических наук, заведующим лабораторией искусственного антителогенеза **Варижук Анной Михайловной**, утверждённом директором, доктором биологических наук, членом-корреспондентом РАН **Лагерьковой Марией Андреевной**, указала, что данная диссертационная работа удовлетворяет требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утверждённом Постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в текущей редакции), а её автор, Голышев В.М., заслуживает присвоения ему искомой учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 – «химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества».

В положительном заключении ведущей организации имеются следующие замечания:

(1) Обоснование схемы на Рис. 6 строится на принципе кооперативного связывания: присоединение первого короткого олигонуклеотида к протяженной матрице повышает вероятность корректного присоединения последующего за счет дополнительных стекинг-контактов на стыке олигомеров. Результаты

моделирования тандемных комплексов gM-олигомеров с матрицей показывают, что концевые участки олигомеров подвижны, геометрия дуплекса искажена. Возможно, стекинг-контакты между короткими олигомерами не реализуются, стоило это обсудить в диссертации несколько подробнее.

(2) Формирование тандемных комплексов “со сдвигом” также трудно исключить для гомополимерных последовательностей, хотя описание подобной системы неоправданно усложнило бы модель. Вероятно, в будущем для исключения “сдвига регистра” целесообразно было бы использовать вместо гомополимеров (или наряду с ними) матрицы более сложного состава. Комментарий о целесообразности и рисках использования последовательностей с тандемными повторами смешанного состава крайне желателен.

(3) В обсуждении применимости модели “все или ничего” для описания тандемных комплексов диссертант опирается преимущественно на косвенные методы. Возможно, следовало указать, какие дополнительные методы могут быть использованы в дальнейшем для исключения интермедиатов и проверки стехиометрии комплексов.

Соискатель имеет 11 научных работ (из них 5 по теме диссертации), опубликованных в отечественных и международных рецензируемых научных изданиях, входящих в список ВАК. Восемь работ опубликованы в материалах всероссийских и международных конференций и симпозиумов.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Golyshev V. M.**, Abramova T. V., Pyshnyi D. V., & Lomzov A. A. A new approach to precise thermodynamic characterization of hybridization properties of modified oligonucleotides: Comparative studies of deoxyribo- and glycine morpholine pentaadenines //Biophysical chemistry. – 2018. – Т. 234. – С. 24-33.

2. **Golyshev V. M.**, Abramova T. V., Pyshnyi D. V., & Lomzov, A. A. Structure and hybridization properties of glycine morpholine oligomers in complexes with DNA and RNA: experimental and molecular dynamics studies //The Journal of Physical Chemistry B. – 2019. – Т. 123. – №. 50. – С. 10571-10581.

3. **Golyshev V. M.**, Pyshnyi D. V., Lomzov A. A. Effects of Phosphoryl Guanidine Modification of Phosphate Residues on the Structure and Hybridization of Oligodeoxyribonucleotides //The Journal of Physical Chemistry B. – 2021. – Т. 125. – №. 11. – С. 2841-2855.

4. Kanarskaya M. A., **Golyshev V. M.**, Pyshnyi D. V., Lomzov A. A. Structure and hybridization properties of phosphoryl guanidine oligonucleotides under crowding conditions //Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2021. – Т. 177.– С. 110-115.DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.09.001

5. **В. М. Голышев**, Д. В. Пышный, А. А. Ломзов. (2021) Расчет энергии формирования РНК/РНК и ДНК/РНК дуплексов на основании метода молекулярной динамики. Молекулярная Биология, 55(6), 1030-1044 // **V. M. Golyshev**, D. V. Pyshnyi, A. A. Lomzov. (2021) Calculation of RNA/RNA and DNA/RNA duplexes formation energy based on molecular dynamics simulation. Molecular Biology, 55(6), 927-940.

На автореферат диссертации поступило 4 отзыва. Все отзывы положительные, из них два содержат замечания. Отзывы поступили от:

- **Гарафутдинова Равиля Ринатовича**, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника, заведующего лабораторией структуры и функций биополимеров Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук;
- **Ким Александры Валерьевны**, кандидата физико-математических наук, научного сотрудника лаборатории молекулярной динамики и структуры ИХКГ СО РАН;
- **Купрюшкина Максима Сергеевича**, кандидата химических наук, старшего научного сотрудника, заведующего лабораторией химии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН;
- **Ямалетдинова Руслана Дамировича**, кандидата физико-математических наук, научного сотрудника лаборатории физикохимии наноматериалов

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения Российской академии наук.

Из отзывов на автореферат два не содержат замечаний (*Гарафутдинов Р.Р., Ким А.В.*). В остальных имеются следующие замечания и вопросы:

Ямалетдинов Р.Д.:

1. В положениях, выносимых на защиту, автор выносит возможность оценки термодинамических характеристик комплексов модифицированных олигонуклеотидов методами ММРВ(GB)SA. К сожалению, ни в соответствующем разделе (3.4), ни в выводах автор не описывает результаты полученные данными методами для комплексов с нейтральным ФГО.

2. При описании КД спектра пентааденилатов с полимерной цепью ДНК (разд. 3.2.1) автор упоминает о его нетипичном виде и, соответственно, сложности определения формы спирали. Остается не понятным как эти результаты соотносятся с моделированием МД в разделе 3.2.4.

3. Какова точность определения констант, представленных в табл. 1? С чем связано нулевое значение ΔS_c^0 для всех комплексов? По результатам аппроксимаций, значение $|\Delta G_{eff}^0| < 10$ ккал/моль. Не понятно, как учитывалась теплоемкость в данной модели при столь небольших значениях энергии Гиббса, и перепаде температур в 70 градусов.

4. В разделе 3.3.4 описывается исследование кинетики образования и диссоциации комплексов ФГО/ДНК. Не понятно, каким образом автор детектировал скорость реакции, какие значения предэкспоненты и энергий активаций получились в итоге? Проводился ли анализ термической стабильности с определением энтальпии и энтропии процесса (по аналогии с разделом 3.2.2)?

Купрюшкин М.С.:

1. Почему был выбран в качестве объекта исследования не классический фосфордиамидатный морфолиновый аналог, а “экзотический” глицин-морфолиновый аналог?

2. В выводах не хватает мнения автора касательно перспективности и границ применения исследованных в работе аналогов НК.

3.

В положительных отзывах оппонентов имеются следующие замечания и вопросы:

Головин А.В.:

1.) Не достаточно освещены проблемы терапевтического применения модифицированных олигонуклеотидов и как данная работа, могла бы продвинуть применение модифицированных олигонуклеотидов в клинике.

2.) Автор указывает на нейтральность фосфорилгаунидиновой группы, но хотелось бы прочесть объяснение этому факту, общепринято считать, что гуанидиновая группа заряжена положительно.

3.) Анализ сольватационного окружения (Рисунки 19, 20 и 37) представлен 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.

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

5.) Отмечается наличие ряда англицизмов и неточностей.

Шернюков А.В.:

1.) Насколько использованный в диссертации метод “все-или-ничего” универсален и какие у него ограничения? Автор решает уравнения материального баланса (20)-(21) численными методами, используя стехиометрические концентрации олигонуклеотидов в качестве граничных условий, однако, численными методами это уравнение можно решать и в общем виде для произвольных концентраций, что может оказаться более удобно и универсально с экспериментальной точки зрения. Кроме того, избыток коротких нуклеотидов по сравнению со стехиометрическим

количеством, по-видимому, лучше подходит для приближения “всё-или-ничего”. Почему были использованы стехиометрические количества?

2.) При компьютерном моделировании комплексов глицин-морфолиновых пентааденилатов с ДНК использовалась В-форма дуплекса в качестве стартовой гипотетической структуры. Почему в этом случае была взята только одна форма и почему именно В?

Во всех отзывах отдельно отмечается, что указанные замечания не снижают научной и практической значимости диссертационной работы. Все отзывы заканчиваются выводом, что диссертационная работа Голышева В.М. **полностью соответствует** требованиям, которые ВАК предъявляет к кандидатским диссертациям, а её автор – Голышев В.М. – заслуживает присуждения учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 – «химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью оппонентов и сотрудников ведущей организации в области молекулярной динамики, исследования физико-химических свойств нуклеиновых кислот, их аналогов и производных, что подтверждается наличием у них публикаций ряда научных работ в данной области исследований в ведущих российских и международных журналах и изданиях, в том числе соответствующих тематике диссертационного исследования соискателя.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- Предложена модель образования тандемных комплексов коротких олигонуклеотидных аналогов с мишенью, позволяющая оценить термодинамические параметры формирования комплексов, а также сопоставить вклады энтальпии связывания и кооперативных контактов на стыке коротких олигомеров.

- Детально изучены физико-химические свойства комплексов глицин-морфолиновых аналогов нуклеиновых кислот и фосфорилгуанидиновых производных с комплементарными ДНК и РНК.

- Создан подход, позволяющий предсказывать термическую стабильность модифицированных дуплексов, успешно реализованный для ФГ-олигонуклеотидов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что в работе проведён сравнительный анализ результатов расчёта гибридизационных термодинамических параметров комплексообразования при помощи обработки МД траекторий методами молекулярной механики в приближении обобщенной модели Борна и Пуассона–Больцмана для широкого спектра как нативных, так и модифицированных комплексов, что позволяет делать выводы о применимости этих методов для указанных расчетов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики заключается в том, что полученные характеристики и физико-химические свойства двух классов модифицированных олигонуклеотидов могут служить референсными данными при выборе модификаций НК для решения задач молекулярной биологии и медицинской химии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что: *сделанные выводы и полученные научные результаты* основаны на квалифицированном применении современных методов компьютерного моделирования и ряда экспериментальных подходов; *результаты* обширных и систематических исследований опубликованы в рецензируемых международных научных журналах.

Личный вклад соискателя состоит в сборе и анализе литературных сведений по теме диссертации; подготовке и проведении всех молекулярно-динамических расчетов; а так же большей части всех экспериментальных исследований. Соискатель принимал непосредственное участие в постановке научных задач, решаемых в данной диссертационной работе, разработке плана исследований, анализе и обсуждении полученных результатов исследований, формулировке выводов. Подготовка публикаций по теме диссертации осуществлялась совместно с соавторами работ и научным руководителем.

Диссертация выполнена на высоком научном уровне и представляет собой законченное исследование с актуальными задачами и содержательными, фундаментальными и практически важными результатами. Материалы диссертации соответствуют требованиям специальности 1.3.17 «химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества» (п. 3 «молекулярная динамика, межмолекулярные потенциалы и молекулярная организация веществ, компьютерная

молекулярная динамика как метод диагностики структуры и динамики веществ»)). Соискатель Голышев В.М. успешно ответил на все задаваемые ему в ходе заседания вопросы из зала, на замечания в отзывах ведущей организации и оппонентов, в отзывах на автореферат диссертации. Соискатель согласился со всеми техническими замечаниями и пожеланиями, по научным вопросам были даны аргументированные и четкие ответы.

На заседании 30 марта 2022 г. диссертационный совет постановил: за развитие физико-химических подходов для исследования и рационального дизайна комплексов нуклеиновых кислот, их производных и аналогов с комплементарными ДНК и РНК, присудить *Голышеву Виктору Михайловичу* учёную степень кандидата физико-математических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 13 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании и голосовании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени - 20, против присуждения учёной степени - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета,

д-р хим. наук, доцент

Онищук Андрей Александрович

Ученый секретарь диссертационного совета,

канд. хим. наук

Поздняков Иван Павлович

01.04.2022 г.