

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дьяковой Юлии Алексеевны «Самоорганизация белковых молекул при формировании кристаллов и пленок», представленную на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 01.04.18 – Кристаллография, физика кристаллов.

АВТОР ОТЗЫВА

ФИО: Кучерка Норберт

Ученая степень: доктор физико-математических наук

Место работы: Объединённый институт ядерных исследований, Лаборатория нейтронной физики им. И.М. Франка

Должность: Заместитель директора лаборатории по научной работе

Контактная информация: kucerka@nf.jinr.ru

1. Общая характеристика диссертации:

Автореферат диссертации описывает работу, которая представляет собой комплексно разработанное исследование. К исследованию фундаментальных взаимодействий белковых молекул и их самоорганизации при формировании упорядоченных систем были применены новые подходы многомасштабного исследования на основе синхротронных и нейтронных экспериментальных методов и расчетов молекулярного моделирования. Результаты исследований приводят к выводам, позволяющим усовершенствование методики определения с высоким пространственным разрешением структуры белковых кристаллов и их растворов.

2. Актуальность тематики диссертации:

Актуальность тематики диссертации несомненна и заключается в нужде высококачественного определения 3Д структуры белков. Белки играют определяющую роль во всех жизненных процессах клеток и организмов в целом. Неправильное функционирование белковых молекул и их взаимодействий приводит к нарушениям и болезням. Знание структуры белков и механизмов их взаимодействий между собой и/или с нативной окружающей средой способствуют развитию здравоохранения человека. В дополнение знание структуры белков является важной частью в разработках технологических процессов в области терапевтических препаратов, диагностических систем, промышленной биотехнологии, биоэнергетики и экологии. При этом на сегодняшний день определена структура в случае лишь нескольких процентов от общего количества всех известных белков.

3. Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы:

В качестве метода определения трехмерной структуры белков и их взаимодействий в работе выбран метод рентгеноструктурного анализа, малоуглового рассеяния нейтронов и расчеты молекулярного моделирования. Это и есть современные методы, эффективно подходящие для определения кристаллической структуры с высоким разрешением (диффракция), определения агрегации молекул и формирования

олигомеров (МУР) и определения механизмов взаимодействия, кинетики и динамики данных систем (моделирование). Не менее важной синергетикой применения упомянутых исследовательских подходов является адаптация к современным вызовам самых методик, которая приводит к их дальнейшему развитию и подтверждению их значимости. Разработанный автором инструментарий представляет собой новый комплексный подход, основанный на применении синхротронных и нейтронных методов, а также молекулярного моделирования. Особая значимость работы заключается в создании специализированных измерительных ячеек. В целом, разработанный инструментарий может быть использован в практике технологических разработок новых лекарственных средств и в промышленной биотехнологии.

4. Научная новизна выносимых на защиту результатов:

Основной новизной результатов работы является создание полного рецепта кристаллизации лизоцима с определением механизма формирования белковых кристаллов, термодинамических параметров промежуточной фазы кристаллизации, также выявлены особенности расположения ионов осадителя.

В частности, можно отметить:

- раскрытие механизма формирования кристаллов, в соответствии с которым зарождению и росту кристалла предшествует образование олигомеров белков. Образующие олигомеры представляет собой в дальнейшем в процессе кристаллизации строительные блоки кристаллов.

- определение расположения ионов осадителя в кристаллах и их строительных блоков. Особенно важными являются данные взаимодействия ионов с белками, формирующими слоевые структуры на границе раздела с водной субфазой. Показана термодинамическая стабильность слоя ионов на этой границе.

- моделирование механизма формирования белковых кристаллов основано на методах молекулярной динамики и расчетах стабильности белковых комплексов с определенной структурой.

5. Апробация работы:

Результаты исследований представленной работы опубликованы автором в соавторстве в ведущей позиции в 4 и в не ведущей позиции в 18 рецензируемых научных статьях в Кристаллографии (11), Acta Crystallographica (4), Journal of Biomolecular Structure and Dynamics (4), Crystal Growth & Design (1), Langmuir (1), Thin Solid Films (1), и 18 не рецензируемых журналах, а также доложены на не менее 22 различных конференциях. По теме диссертации имеются 3 патента в соавторстве.

Можно отметить пожелание увидеть публикацию достигнутых результатов в более престижных журналах и с привлечением более широкого внимания.

6. Вопросы и замечания:

- Автором отмечено присутствие в растворе специфических олигомеров (димеров и октамеров) белков лизоцима, которые предшествуют кристаллизации. Структурная специфика этих олигомеров видимо способствует зарождению и росту кристаллов. Одновременно, результаты показывают полное отсутствие иных олигомеров (тетрамеров, гексамеров в частности). В чем заключается специфика димеров и октамеров, которая позволяет их образованию в растворе, а не позволяет формированию тетрамеров и гексамеров?

- Применение тяжелой воды (D_2O) в подготовке раствора показало ее существенное влияние на процесс и условия кристаллизации. Можно обосновать в чем именно заключается различие между взаимодействием молекул белка и протонированной или дейтерированной водой?

- Данная работа представляет собой полный рецепт кристаллизации лизоцима с определением закономерностей механизмов данного процесса. Насколько применяемыми являются результаты в случае других белков и процессов кристаллизации в целом?

7. Заключение:

Диссертация Дьяковой Юлии Алексеевны «Самоорганизация белковых молекул при формировании кристаллов и пленок», является комплексным и усовершенствованным исследованием проблемы кристаллизации белков лизоцима в растворе, для которого разработаны и применены новые подходы ртг-диффракции, рассеяния нейтронов и молекулярного моделирования. Представленная работа имеет практическую и теоретическую значимость и заслуживает присуждения научной степени доктора физико-математических наук по специальности «Кристаллография, физика кристаллов».

Дата 16.11.2021

Подпись  / Кучерка Норберт



Д.ф.-м.н. Кучерка Норберт

Заместитель директора по научной работе Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка

Объединённого института ядерных исследований

г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, д. 6

kucerka@nf.jinr.ru

+7 (496) 216-20-95