

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Дадиновой Любови Александровны «Малоугловое рентгеновское рассеяние в исследовании трехмерных структур бионаноконпозитов на основе ДНК и ряда белков, участвующих в катаболизме *Escherichia coli* в стационарной фазе роста», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07 — «Физика конденсированного состояния»

Диссертационная работа Любови Александровны Дадиновой посвящена исследованию молекулярной структуры ряда биоорганических систем, включая белки и нуклеиновые кислоты в растворах, методом рентгеновского малоуглового рассеяния. К числу исследованных систем, во-первых, относятся пять белков, которые объединяет тот факт, что все они участвуют в катаболизме стационарной фазы роста клеток бактерии кишечной палочки *E.coli*. Для исследованных белков на основе экспериментальных данных малоуглового рассеяния построены структурные модели, которые в ряде случаев совпадали с олигомерными кластерами – фрагментами кристаллической структуры соответствующих белков, а в ряде – демонстрировали принципиальные различия. Изучение структурно-морфологических особенностей белковых систем, а также их структурного отклика на внешние воздействия в физиологических условиях является важным шагом в построении полного интерактома данной бактерии. Другим классом исследованных систем являются холестерические жидкокристаллические дисперсии ДНК и их комплексы с наночастицами золота, которые перспективны в области разработки средств таргетированной доставки лекарств, в частности, противоопухолевых препаратов. Работа выполнена на стыке молекулярной биологии и нанотехнологии, что обуславливает ее безусловную актуальность.

Диссертационная работа состоит из Введения, пяти глав, Заключения и Выводов. **Первая глава** посвящена описанию физических основ метода рентгеновского малоуглового рассеяния и современных подходов к количественному анализу экспериментальных данных. **Вторая глава** посвящена краткому введению в систематику белков и обоснованию важности структурных исследований. В **третьей главе** изложены основные экспериментальные результаты, касающиеся 5 белков, участвующих в катаболизме *E.coli* в стационарной фазе роста клеток: фруктозо-бисфосфат-альдолазы, неорганической пиррофосфатазы, 5-кето-4- дезоксиуронат изомеразы, глутаматдекарбоксилазы и

дигидролипоилдегидрогеназы. Для получения наиболее объективной информации о фракционном олигомерном составе исследуемых белковых систем в физиологических растворах помимо малоуглового рассеяния использовались данные аналитического ультрацентрифугирования и эксклюзионной хроматографии. В главе 4 дан краткий литературный обзор методов получения, свойств и перспективных приложений жидкокристаллических дисперсий на основе нуклеиновых кислот, а в главе 5 приведены результаты экспериментальных исследований холестерических агрегатов двухцепочечных ДНК и их комплексов с наночастицами золота. Здесь в качестве дополнительного метода использована спектроскопия кругового дихроизма. В главе **Заключение** подведены итоги работы, обобщены и систематизированы основные результаты. **Выводы** логично вытекают из представленных экспериментальных данных и исчерпывающим образом аргументированы. Сомнений в их корректности нет.

Диссертационная работа написана хорошим научным языком. Грамотно подобран иллюстративный материал. Для получения экспериментальных данных используется самое современное исследовательское оборудование, такие как станция P12 синхротронного центра PETRA III (Гамбург, Германия), эффективно дополненные лабораторными методами из арсенала молекулярной биологии. Особо хочется отметить филигранное владение диссертантом наиболее современными подходами к обработке данных малоуглового рассеяния и соответствующим методам моделирования структуры. Для каждого исследуемого объекта Л.А. Дадинова последовательно применяет как стандартный набор инструментов анализа: построение экспериментальной кривой в специальных координатах, определение малоугловых инвариантов, анализ олигомерного состава, так и сложные методы с элементами стохастического моделирования, такие как молекулярный докинг и молекулярная тектоника. Именно это определяет успешность решения поставленных задач по нахождению наиболее вероятных структурных моделей.

В диссертационной работе получен ряд конкретных результатов, обладающих **научной новизной**: определение доминирующих олигомерных форм существования белков в растворах, а также характер смещения равновесия при

изменении рН создает рациональную основу направленного воздействия на протекание метаболических процессов в клетках.

Несмотря на исключительно высокий уровень работы, к ней имеется несколько замечаний и вопросов.

1. В конце главы 1 была бы весьма полезна схема, демонстрирующая последовательность шагов обработки данных малоуглового рассеяния и общую логику применения различных подходов к моделированию структуры и компьютерных программ, которые используются далее в работе.

2. Недостаточно подробно описана процедура построения атомистичных моделей олигомерных кластеров из нескольких белковых молекул и выбора наиболее оптимальной модели. Совершенно очевидно, что подобных моделей может быть построено бесконечное множество. Нет ссылок на используемую симметричную номенклатуру (P32, P52 для разных белков). С формальной точки зрения олигомер конечного размера должен описываться точечной группой симметрии. Что означает символ P? Следует ли понимать последовательность символов 52, что выбранная субъединица размножилась осью 5-го порядка, а затем – 2-го? Как выбирались ориентации этих осей относительно выбранной субъединицы и друг друга (с учетом того факта, что в кристаллической структуре белка-прототипа не могла присутствовать ось 5-го порядка).

3. Какой математический алгоритм использовался для расчета кривой рассеяния от ламеллярного агрегата молекул ДНК в главе 4 (Рисунки 5.3, 5.4 диссертации, Рис. 8 автореферата). Какие параметры модели оптимизировались? Насколько можно судить по рисунку, модель включает 2 ламелли ДНК, хотя данные таблицы 5 (1 автореферата) подразумевают, что область когерентного рассеяния должна включать 7-25 ламелл. Как можно объяснить отсутствие дифракционных рефлексов старших порядков в экспериментальной кривой рассеяния?

Указанные недостатки не являются принципиальными и ни в коей мере не затрагивают сути и основных выводов работы. По материалам диссертации опубликовано шесть статей в тематических журналах, индексируемых в библиографических базах данных Web of Science и Scopus. Диссертация прошла всестороннюю апробацию на международных конференциях в виде 10 докладов,

некоторые из которых были отмечены дипломами. Содержание автореферата полностью соответствует диссертации.

Считаю, что диссертационная работа Дадиновой Любови Александровны «Малоугловое рентгеновское рассеяние в исследовании трехмерных структур бионанокompозитов на основе ДНК и ряда белков, участвующих в катаболизме *Escherichia coli* в стационарной фазе роста может рассматриваться как законченное научно-квалификационное исследование в области структурного анализа функционально-значимых белков бактерии *E.coli*. Диссертация удовлетворяет всем требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям в соответствии с п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением №842 Правительства РФ от 24 сентября 2013 года, а диссертант Л.А. Дадинова, безусловно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07. — «Физика конденсированного состояния».

Я. Зуб

16.09.2016

Зубавичус Ян Витаутасович, д.ф.-м.н.
Начальник отдела синхротронных станций
Курчатовского комплекса синхротронно-нейтронных исследований
НИЦ «Курчатовский институт»
123182 Москва, пл. Акад. Курчатова, 1
Эл. почта: Zubavichus_YV@nrcki.ru
Тел. 8(499)1967263

Подпись сотрудника НИЦ «Курчатовский институт» Зубавичуса Я.В. заверяю

Главный ученый секретарь НИЦ «Курчатовский институт»



С.Ю. Стремоухов