

## ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу ЖИТНІКОВОЇ Марії Юріївни «Конформації цукрофосфатного остову ДНК та білково-нуклеїнове впізнавання», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук зі спеціальності 03.00.02 – біофізика

Дисертаційна робота Житнікової М.Ю. присвячена одній із актуальних та важливих задач сучасної біофізики – теоретичному дослідженню ролі структурного поліморфізму ДНК в реалізації непрямого механізму білково-нуклеїнового впізнавання. Актуальність обраної теми не викликає сумніву, адже розуміння молекулярних механізмів взаємодії ДНК з білковими молекулами має надзвичайно важливе значення на усіх етапах передачі та збереження генетичної інформації. Невпинно зростаючий прогрес у цій області обумовлений, в значній мірі, бурхливим розвитком потужних методів біоінформатики. Сучасні комп'ютерні алгоритми дають можливість вирішити цілу низку наукових задач, серед яких всебічна характеристика усього спектру просторових структур біополімерів, дослідження впливу різноманітних чинників на конформацію макромолекул, ідентифікація потенційних сайтів зв'язування біооб'єктів з лігандами, визначення енергії комплексоутворення, тощо. Тому підхід, який обрала Житнікова М.Ю. для вирішення поставлених у роботі задач, є вельми інформативним та вдалим. Про актуальність теми дисертаційного дослідження свідчить також його зв'язок з державною науковою програмою у рамках дербюджетних тем «Молекулярні моделі комплексів біологічно активних речовин з нуклеїновими кислотами за умовами мультимодального та конкурентного зв'язування» (номер держреєстрації 017U001079), «Механізми впливу біологічно-активних речовин і електромагнітних полів гіга- та терагерцевого діапазонів на біооб'єкти різного рівню організації (біополімери, біомембрани, клітини)» (номер держреєстрації 0111U010475).

Робота складається з п'яти розділів. У **вступі** обгрунтовано актуальність обраної теми та доцільність вирішення поставлених завдань.

**Перший розділ** присвячено огляду сучасних уявлень про структуру та конформацію нуклеїнових кислот, описано можливі поліморфні форми ДНК. Детально обговорено структуру білково-нуклеїнових комплексів, а також повно розглянуто молекулярні механізми сиквенс-специфічності конформаційних перебудов ДНК у вільному стані та при зв'язуванні з білками. На основі проведеного аналізу літературних даних сформульовано задачі дисертаційного дослідження.

У **другому розділі** висвітлені основні методи та об'єкти роботи. Наведена загальна характеристика створеної оригінальної бази даних, яка містила 16 структур нуклеосом, отриманих з роздільною здатністю вище 2.6 Å. Описано алгоритми розрахунків ширини малого жолобка ДНК, площі доступної поверхні атомів, електростатичного потенціалу малого жолобка нуклеотидів та кількості білково-нуклеїнових контактів.

У **третьому розділі** викладені результати дослідження конформаційних переходів вільної ДНК в альтернативні конформації кута  $\gamma$ . Детально проаналізовано, як конформаційна варіабельність цукрофосфатного остову ДНК впливає на полярність та електростатичний потенціал малого жолобка. Цікавою є вперше встановлена кореляція між послідовністю ДНК та змінами фізико-хімічних властивостей малого жолобка.

**Четвертий розділ** описує структурні перебудови кута  $\gamma$  ДНК у комплексі з білковими молекулами. Автором переконливо показано, що тенденція переходу ДНК в альтернативні стани посилюється при її зв'язуванні з білками. Кількісний аналіз білково-нуклеїнових контактів дозволив зробити висновок, що А-форма ДНК взаємодіє з білками переважно у малому жолобку, тоді як для В-форми ДНК більш вигідним сайтом комплексоутворення є великий жолобок. Вельми важливим у контексті реалізації білково-нуклеїнового впізнавання є отримані у цьому розділі дані щодо сиквенс-специфічності конформаційних переходів ДНК в альтернативні структури.

У **п'ятому розділі** розглянуто особливості та наслідки утворення альтернативних конформацій ДНК у процесі формування нуклеосом. На основі

узагальнення великої кількості даних, отриманих у рамках цього розділу, дисертантом було встановлено, що за місцем локалізації у нуклеосомі всі досліджувані нуклеотиди в альтернативних конформаціях можуть бути класифіковані на дві підгрупи: а) поверхнево орієнтовані, та б) з локалізацією як на поверхні, так і всередині нуклеосом. Окрему увагу у цьому розділі приділено встановленню кореляції між конформаційними змінами кута  $\gamma$  та структурними параметрами нуклеосомної ДНК. Зроблено висновок про визначальну роль структурної перебудови цукрофосфатного остову нуклеосомної ДНК на рівні змін торсійного кута  $\gamma$  у деформації подвійної спіралі ДНК, яка лежить в основі стабілізації структури нуклеосоми.

Характеризуючи роботу в цілому, необхідно відзначити, що дисертація написана ясною мовою, добре проілюстрована та не містить плагіату. Кожний розділ закінчується чітким висновком, який акцентує увагу на найбільш суттєвих результатах. Основні результати є **новими** та вперше отримані автором дисертації. Безсумнівну наукову **новизну** роботи підтверджує також опублікування основних результатів роботи у 2 монографіях та 4 статтях у міжнародних та вітчизняних журналах з високим рейтингом, а також **апробація** на 16 конференціях. Усі наукові положення, висновки та гіпотези, сформульовані у дисертації, є добре **обґрунтованими** та **достовірними**. Автореферат вірно відображає основний зміст дисертації.

Разом із тим, при загальній позитивній оцінці, робота не позбавлена деяких **недоліків**. Зокрема:

1. У роботі встановлено, що перехід цукрофосфатного остову ДНК в альтернативні конформації супроводжується змінами площі доступної поверхні атомів та електростатичного потенціалу малого жолобка. Однак, не зовсім зрозуміло, як конкретно враховувалися різні значення кута  $\gamma$  при розрахунку цих параметрів. Варто було навести формули або дати детальне описання алгоритмів, якщо вони були вбудовані у програми, використані для проведення розрахунків (підрозділи 2.5 та 2.7).

2. У розділі 2 при описанні алгоритмів проведення розрахунків не вказано, що було взято у якості референс-структури, відносно якої фіксували перехід торсійних кутів  $\alpha$  та  $\gamma$  в ту чи іншу конформацію.
3. На мій погляд, недостатньо уваги приділено описанню оригінальної бази даних, створеної дисертантом. З огляду на те, що це є вагомим результатом роботи, необхідно привести більш детальну дескрипцію цієї бази даних. Наприклад, варто було б подати декілька скріншотів та описати, як інформація заноситься у базу даних. Більш того, оскільки створення бази даних є першою задачею, поставленою у роботі, доцільним було б привести описання створеної бази даних не у Розділі 2 «Об'єкти та методи дослідження», а винести це у Розділ 3, де починається вже викладення отриманих у дисертації результатів.
4. На стор. 86 автор стверджує, що збільшення електронегативності малого жолобка при переході кута  $\gamma$  в альтернативну  $t$  конформацію є прямим наслідком звуження малого жолобка. Чи є це єдиним можливим поясненням спостережуваного ефекту?
5. У табл. 3.1 вказано, що кількість  $t$ -конформацій для В-ДНК складає 0.8%, причому ця альтернативна конформація притаманна тільки нуклеотидам, що містили тимін. Яка похибка розрахунку кількості конформацій торсійного кута? Чи коректним є висновки, які зроблені на основі отриманого значення 0.8%?
6. У роботі зустрічаються технічні помилки. Наприклад, на стор. 20 вказано «...180°+60°...» замість «...180°±60°...» й т.д.

Проте, ці зауваження ніяк не впливають на загальну високу позитивну оцінку роботи. Дисертація Житнікової М.Ю. «Конформації цукрофосфатного остову ДНК та білково-нуклеїнове впізнавання» є завершеною науковою працею, в якій зроблено вагомий внесок у вирішення однієї з найважливіших проблем молекулярної біофізики, пов'язану із молекулярними механізмами взаємодії білків та нуклеїнових кислот.

За обсягом проведених досліджень, якістю, актуальністю, новизною і достовірністю отриманих результатів та повнотою їх викладення, дисертація Житнікової Марії Юріївни «Конформації цукрофосфатного остову ДНК та білково-нуклеїнове впізнавання» повністю відповідає вимогам Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р., а її авторка – Житнікова Марія Юріївна – заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

Офіційний опонент:

доцент кафедри ядерної та медичної фізики  
Харківського національного університету  
імені В.Н. Каразіна, доктор фіз.-мат. наук

В.М. Трусова

Підпис В.М. Трусової засвідчую  
Учений секретар Харківського національного  
університету імені В.Н. Каразіна



Н.А. Вінникова

13.03.2017.

*Відзук отримано 13.03.2017 року*

*Учений секретар спеціалізованої  
вченої ради Д 64.051.13*

*Гашин / Бересів В.П.*