

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Житнікової Марії Юріївни** **“Конформації цукрофосфатного остову ДНК та білково-нуклеїнове впізнавання”**, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

Дисертаційна робота Житнікової Марії Юріївни присвячена актуальній проблемі визначення взаємозв'язку конформаційних перебудов остова подвійної спіралі ДНК з перебігом процесів білково-нуклеїнового впізнавання. Як відомо, структурні перетворення подвійної спіралі, які відбуваються під впливом білкових структур, лежать в основі фундаментальних процесів реалізації генетичної інформації. У той же час сформулювати універсальні принципи впізнавання специфічних нуклеотидних послідовностей ДНК білками поки не вдається. Тому, дослідження фізичних характеристик подвійної спіралі і конформації цукрофосфатного остову в процесах специфічного комплексоутворення з білками є необхідним етапом в розумінні молекулярних механізмів білково-нуклеїнового впізнавання.

Метою дисертації Житнікової М.Ю. було встановлення ролі конформаційних перебудов цукрофосфатного остову ДНК в реалізації непрямого механізму білково-нуклеїнового впізнавання. Авторкою було розв'язано низку складних задач, а саме: за допомоги аналізу структур в PDB та NDB базах даних вперше визначено особливості перебудов цукрофосфатного остову вільної ДНК та ДНК в комплексах з білками, а саме вплив конформації остова макромолекули на зміну площ доступної поверхні атомів в жолобках подвійної спіралі та їх полярність; розподіл електростатичного потенціалу малого жолобка ДНК; залежність перебудов цукрофосфатного остову і фізичних характеристик вільної ДНК та ДНК в комплексах з білками від нуклеотидної послідовності; особливості конформації остову ДНК у складі нуклеосом.

Дисертація складається з п'яти розділів. У першому розділі надано детальний огляд літератури, що освітлює сучасний стан проблем, яких торкається дисертаційна робота. Виявлено низку невирішених питань та обрано актуальні задачі для досліджень, а саме вплив перемикачів кута  $\gamma$  та конформації дезоксирибози на структуру та фізичні характеристики подвійної спіралі ДНК і білково-нуклеїнових комплексів. У другому розділі описано методи, які використано для дослідження та подані характеристики об'єктів дослідження. Для проведення розрахунків створена



база даних ProtNA-ASA, вільно доступна в Інтернеті, яка містить інформацію про структури вільної ДНК та ДНК в комплексах с білками, площі доступної поверхні атомів ДНК у великому та малому жолобках, структурні параметри ДНК. Описано методи відбору структур, розрахунку площі доступної поверхні, ширини малого жолобка та визначення білково-нуклеїнових контактів. Зроблено статистичну обробку характеристик об'єктів дослідження.

У третьому розділі наведено результати аналізу конформаційної мінливості вільної ДНК в *A*- та *B*- формах. Показано, що у вільної ДНК спостерігаються перемикання кута  $\gamma$ , частота появи яких залежить від послідовності нуклеотидів в макромолекулі. З'ясовано, що *A*-ДНК має значно більшу кількість нуклеотидів з альтернативними конформаціями остова. Знайдено кореляцію між шириною та електростатичним потенціалом малого жолоба та величиною кута  $\gamma$ .

Четвертий розділ містить дослідження конформаційних перебудов остову ДНК у складі білково-нуклеїнових комплексів. Проведений систематичний аналіз перемикань кута  $\gamma$  показав, що кількість альтернативних станів остова зв'язаної ДНК значно вищий ніж у вільної ДНК, особливо для *A*-подібної ДНК. Отримано також, що вільна *A*-подібна ДНК має лише одну альтернативну конформацію. Показано, що при перемиканні кута  $\gamma$  змінюється площа доступної поверхні полярних та гідрофобних атомів цукрофосфатного остову ДНК, а саме  $O3'$ ,  $O5'$ , та  $C5'$  атомів.

П'ятий розділ присвячено особливостям перебудов остову ДНК у складі нуклеосом. Показано, що нуклеосомна ДНК має велику кількість альтернативних станів кута  $\gamma$ , згідно з розташуванням яких можна виділити дві групи структур. Перша група складається з структур, що мають альтернативні стани переважно на зовнішній поверхні нуклеосоми, друга група має рівномірний розподіл таких станів на внутрішній та зовнішній поверхнях нуклеосоми.

У цілому дисертація виконана на високому науковому рівні і оформлена належним чином. Розділи добре структуровані, матеріали дисертації викладено у відповідності до існуючих стандартів для наукової мови. Робота добре ілюстрована численними рисунками, які дають чітке уявлення про вплив конформаційних перебудов цукрофосфатного остову ДНК на різні характеристики ДНК. Основні положення і результати, представлені в дисертації, є новими й вперше отриманими авторкою.

Отримані в роботі результати викладено в наукових фахових виданнях: 4 статті у фахових журналах, глава у міжнародній монографії і монографія. Також, після

опублікування автореферату, по темі дисертації надрукована стаття в Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, "DNA minor groove electrostatic potential: influence of sequence-specific transitions of the torsion angle  $\gamma$  and deoxyribose conformations", автори Житнікова М.Ю та Шестопалова А.В., яка доступна на сайті журналу з 16.11.2016 (DOI 10.1080/07391102.2016.1255259), але не увійшла до переліку статей у авторефераті. Зміст автореферату дисертації повністю відповідає основним положенням дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота Житнікової М.Ю. є науковим дослідженням, яке за обсягом та науковою цінністю результатів повністю відповідає вимогам для кандидатської дисертації. В той же час, за змістом дисертаційної роботи та автореферату виникли деякі зауваження:

- 1 З викладеного у дисертації матеріалу може скластися враження, що для опису перебудов структури ДНК достатньо знати зміни кута  $\gamma$  та конформацією дезоксирибози, а для опису розташування нуклеїнових основ - форму подвійній спіралі. Але особливу роль відіграють і локальні параметри нуклеотидних послідовностей (приведені у дисертації на Рис. 1.4), які фактично визначають генетичний код фрагменту ДНК. На жаль, в дисертації взаємозв'язок між внутрішніми та зовнішніми параметрами ДНК аналізують тільки на рівні узагальнених *A*-, і *B*- форм подвійної спіралі, а не на рівні внутрішніх локальних параметрів нуклеотидних послідовностей.
- 2 Виконаний у роботі аналіз структур вільної ДНК та ДНК у комплексі з білками базується на результатах PDB та NDB баз даних, отриманих в рентгенографічних дослідженнях, тобто для статичних структур. Для повноти картини потрібно було б порівняти одержані результати з даними метода Молекулярної динаміки, де є можливість спостерігати також динамічно стабільні структури.
- 3 Великий обсяг інформації, отриманий в роботі на основі аналізу відомих нуклеїново-білкових комплексів, поки не використано для вирішення певної нової проблеми структуроутворення в молекулярній біології, або передбачення можливості або неможливості комплексоутворення модельних структур.



- 4 Використання деяких термінів у розглянутих задачах не є виправданим. Так “динаміка структури” не є тотожним до “мінливість структури” (стр.29), а “локальні деформації” (стр.25) це не обов’язково “злам” спіралі.

Слід зазначити, що виконані дослідження є початком дуже важливої роботи по аналізу біологічної інформації, записаної в жолобках подвійної спіралі. Наведені зауваження не є принциповими і не знижують загального приємного враження від роботи, а скоріше є побажаннями для подальших досліджень. Всі основні результати та висновки дисертації належним чином опубліковані та пройшли апробацію. Автореферат повністю відповідає змісту дисертації. Ознак плагіату в дисертації не виявлено.

За актуальністю, об’ємом проведених досліджень, ступенем обґрунтованості наукових положень і висновків, їх новизною, значимістю, достовірністю та повнотою викладення дисертація Житнікової Марії Юріївни задовольняє всім формальним вимогам МОН України, а її авторка – заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02-біофізика.

Офіційний опонент  
головний науковий співробітник,  
завідувач лабораторії біофізики макромолекул  
Інституту теоретичної фізики  
ім. М.М.Боголюбова НАН України,  
доктор фіз.-мат. наук

С.Н. Волков

Підпис доктора фіз.-мат. наук  
С.Н. Волкова засвідчую.  
Вчений секретар  
Інституту теоретичної фізики  
ім. М.М.Боголюбова НАН України,  
кандидат фіз.-мат наук



С.М. Перепелиця