

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.225.02, СОЗДАННОГО
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КАЗАНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 16.12.2021 № 5

О присуждении **Изотовой Екатерине Дмитриевне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук. Диссертация **«Роль структурных особенностей каталитического действия силикатеина- α в процессе биосилификации по данным компьютерного моделирования»** по специальности 1.5.2 - Биофизика принята к защите 15 октября 2021г. (протокол заседания № 2) диссертационным советом 24.1.225.02 на базе ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»» (ФИЦ казНЦ РАН) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 420111, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Лобачевского д. 2/31 (приказ Минобрнауки РФ №788/нк от 09.12.2020 г.).

Соискатель, Изотова Екатерина Дмитриевна, 30.09.1986 года рождения, в 2009 г. с отличием окончила ГОУ ВПО «Казанский государственный университет» им. В.И. Ульянова-Ленина» по специальности «Биохимия». В 2012 г. окончила очную аспирантуру при ФГАОУ ВПО «Казанском (Приволжском) федеральном университете по специальности «Биохимия» (приказ № 01/1317 от 29.10.2012). В 2014 г. с отличием окончила ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» с присвоением квалификации «Магистр» по направлению подготовки «Биология», профиль

«Биоинформатика». В настоящее время является старшим преподавателем кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии ИФМиБ КФУ (приказ № 02/916 от 26.11.2019). Диссертация Изотовой Е.Д. выполнена на кафедре биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанского (Приволжского) федерального университета Министерства науки и высшего образования.

Научный руководитель старший научный сотрудник, кандидат биологических наук **Акберова Наталья Ивановна**, доцент кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии ИФМиБ ФГАОУ ВО «Казанского (Приволжского) федерального университета».

Официальные оппоненты:

Григорьев Федор Васильевич, доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского вычислительного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, г. Москва;

Холявка Марина Геннадьевна, доктор биологических наук, доцент, старший научный сотрудник кафедры биохимии и физиологии клетки Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», г. Воронеж,

дали положительные отзывы на диссертационную работу.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН), г. Пущино, в своем положительном отзыве, подписанном Чуевым Геннадием Николаевичем, доктором физико-математических наук, главным научным сотрудником лаборатории биофизики возбудимых сред ИТЭБ РАН, указала, что «...работа Изотовой Е.Д. посвящена поиску функционально значимых областей и конформации активного центра силикатеина- α для инициации олигомеризации кремниевых кислот. Кремнийорганические соединения являются одним из базовых элементов

нанотехнологий, что делает актуальным проведенное исследование. Указанные в отзыве неточности и опечатки в работе не оказывают существенного влияния на качество и значимость полученных результатов и не снижают их научной и практической ценности». Автореферат диссертации достаточно полно отражает ее содержание. Диссертационная работа отвечает критериям, сформулированным в разделе II «Положения о порядке присуждении ученых степеней», а автор работы, Изотова Екатерина Дмитриевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 - биофизика.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 5 опубликованы в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных информационно-аналитических системах научного цитирования, входящих в перечень журналов рекомендованных ВАК, и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021619675. Общий объем опубликованных по теме диссертации работ составляет 55 страниц. Работы написаны соискателем в соавторстве с другими исследователями, личный вклад диссертанта заключается в выполнении основной части вычислительных экспериментов, в анализе литературных данных и обобщении полученных результатов.

Диссертационная работа не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021619675. Программа для анализа траекторий молекулярной динамики и визуализации графовых моделей пространственных структур / **Е.Д. Изотова** – Заявка №20216128444. Дата поступления 31 мая 2021г. Зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 15 июня 2021г.

2. **Изотова Е.Д.** Молекулярная динамика кремниевых кислот в водном растворе: качественная и количественная характеристика олигомеров / **Е.Д.**

Изотова, М.А. Рудакова, Н.И. Акберова // Ученые записки Казанского университета. Серия Физико-математические науки. - 2020. - Т. 162.- № 1. - С. 5-26. (ВАК, Scopus, Web of Science).

3. Tarasov D. Optimal Approach Trajectories for a Hydrogen Donation Tool in Positionally Controlled Diamond Mechanochemistry / D. Tarasov, **E. Izotova**, D. Alisheva, N. Akberova, R. A. Freitas // Journal of Computational and Theoretical Nanoscience.- 2013.- Vol. 10.- №. 2.- p.1-9. (Scopus, Web of Science).

4. Тарасов Д.С. Молекулярная динамика и свободная энергия связывания линолевой кислоты с ДНК в водном растворе / Д.С. Тарасов, М.Я. Ибрагимов, **Е.Д. Изотова**, Н.И. Акберова, Р.И. Жданов // Доклады Академии наук. Серия - биохимия, биофизика, молекулярная биология.- 2012. - Т. 446.- № 2. - С. 226-231. (ВАК, Scopus, Web of Science).

5. Tarasov, D.S. Gramm-software package for molecular dynamics on graphical processing units / D.S. Tarasov, **E.D. Izotova**, D.A. Alisheva, N.I. Akberova // Mathematical Models and Computer Simulations.- 2010.- Vol. 2.- I. 1.- p. 46-54. (ВАК, Scopus, Web of Science).

6. Акберова Н.И. Сравнение методов расчета электростатических взаимодействий в алгоритмах для графических акселераторов / Н.И. Акберова, Д.И. Алишева, **Е.Д. Изотова**, Д.С. Тарасов // Ученые записки Казанского государственного университета. Естественные науки.- 2008.- Т. 150.- кн. 2.- С. 71-81. (ВАК).

На диссертацию и автореферат поступило 3 отзыва:

от к.б.н., доцента, ведущего научного сотрудника лаборатории бионанотехнологий и биомедицины ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН Шкрыля Юрия Николаевича: отзыв положительный, замечаний к содержанию и оформлению автореферата нет;

от к.ф.-м.н., заведующего лабораторией структуры и динамики биомолекулярных систем ИБК РАН Кондратьева Миксима Сергеевича, отзыв положительный, замечаний к содержанию и оформлению автореферата нет;

от к.б.н., научного сотрудника отдела биотехнологии и биоэнергетики

Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт» Зинуровой Елены Евгеньевны, отзыв положительный. Отмечается, что в автореферате имеются незначительные опiski и пунктуационные ошибки, которые не влияют на понимание сути изложенного и не снижают общего впечатления от проделанной работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оппоненты являются ведущими специалистами в области компьютерного моделирования взаимодействия биомолекул и имеют научные работы, опубликованные в центральных российских и зарубежных изданиях, относящихся к тематике защищаемой диссертации, а ведущая организация является ведущим учреждением, занимающимся решением проблем в области теоретической и экспериментальной биофизики.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

предложены расчетные данные, подтверждающие активацию молекулы ортокремниевой кислоты по механизму SN2-Si в активном центре силикатеина- α ;

предложены варианты конфигурации активного центра силикатеина- α , при которых возможен перенос H^+ в пределах электроотрицательной пары атомов фермент-субстрат, которые сопряжены со степенью протонирования по πN и не зависят от поворота имидазольного кольца His163;

разработан способ получения частотного распределения низших кремниевых кислот в водном растворе путем сопоставления образующихся по результатам молекулярной динамики в реакционном силовом поле Feuston and Garofalini молекулярных графов олигомеров кремниевых кислот. На предложенный способ получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021619675. Полученные результаты могут расширить границы применимости экспериментальных методов в области химии силикатов;

определены три региона связывания низших кремниевых кислот ($Si_n = 1-$

б) с поверхностью силикатеина- α и пре-силикатеина- α , это области вблизи аминокислотных остатков Asp6, Ser25 и Thr94, а также Asp68, Ser131, Thr329, соответственно. Максимальной аффинностью к силикатеину среди лигандов обладают линейные и разветвленные формы. При докировании лигандов с количеством атомов кремния ($Si_n = 1-4$) на поверхность пре-силикатеина- α область вблизи Ser131 разделяются на 2 группы. Циклические олигомеры кремниевых кислот с количеством атомов кремния ($Si_n = 3-5$) имеют максимальную аффинность к району Asp6.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные результаты вносят вклад в расширение представлений о процессах биосилификации на молекулярном уровне. Применительно к проблематике диссертации эффективно использован большой спектр вычислительных методов, что позволило получить качественно новые данные о субстратном разнообразии кремниевых кислот и областях связывания субстратов с силикатеином- α , что раскрывает новые факты каталитической и структурообразующей активности силикатеина- α в процессе биосилификации.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: предложенный в работе подход получения олигомерного разнообразия природных субстратов силикатеина- α (низших кремниевых кислот) может быть использован для разработки математической модели процесса биосилификации, кроме того, полученный частотный спектр может быть использован для улучшения методов идентификации отдельных изомеров кремниевых кислот в водном растворе (ЯМР ^{29}Si , ИК-Фурье спектроскопии, малоуглового рассеяния и др.).

Данные о влиянии степени протонирования, величине угла поворота относительно связи $C_\alpha-C_\beta$ имидазольного кольца His163 и подвижности аминокислот активного центра силикатеина- α (His163, Ser25, Gln19) позволили выделить из представленных в литературе один механизм инициации активации кремниевых кислот. Результаты лиганд-белкового и белок-белкового докинга позволили выделить области с максимальной аффинностью природных

субстратов (низших кремниевых кислот) к поверхности силикатина- α , что является важным фактом для понимания процессов биосилификации и морфогенеза спикул, поскольку силикатин- α обладает также и структурообразующей активностью.

Оценка достоверности результатов исследования выявила обоснованность выводов. Эксперименты по компьютерному моделированию выполнены в нескольких повторах (от 3 до 10). Полученные данные подвергнуты статистической обработке: нормальность распределения оценивалась с помощью критерия Шапиро-Уилка и теста Д'Агостино, для сравнения двух выборок использовался U-критерий Манна-Уитни, для множественного сравнения - критерий Крускала-Уоллиса.

В работе корректно использовались методы теории функционала плотности (DFT) с применением расширенного функционала X3LYP и B3LYP в базисных наборах 6-31G(d)/6-311++G(2d, p), методы молекулярной динамики в пакете NAMD multicore CUDA с использованием силового поля CHARMM36 и в программе Gromacs с потенциалом Amber99. Молекулярный докинг проведен с использованием сервисов BSP-SLIM и ROSIE.

Полученные данные частотного распределения молекулярных моделей кремниевых кислот в водном растворе по результатам проведенного моделирования качественно согласуются с данными ЯМР ^{29}Si , спектроскопией УФ-комбинационного рассеяния и с ранее проведенными исследованиями с использованием методов квантовой химии.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в составлении плана исследования, подготовке начальных молекулярных моделей, проведении численных экспериментов, включающих использование совокупности методов квантовой химии, молекулярной динамики и молекулярного докинга; апробации результатов исследования, а также в обработке, интерпретации экспериментальных данных и подготовке основных публикаций по выполненной работе. Полученные выводы базируются на результатах собственных исследований автора или в соавторстве с

сотрудниками Акберовой Н.И. (ИФМиБ КФУ), Рудаковой М.А. и Чаплановым В.В. (ИТИС КФУ), а также Тарасовым Д.С. и Алишевой Д.А. (КФУ).

В ходе защиты диссертации были высказаны замечания, касающиеся опечаток, стилистических погрешностей и употребления англицизмов. Соискатель Изотова Е.Д. согласилась с замечаниями. На критическое замечание, касающиеся высокой полной энергии образования комплексов каталитическая триада-субстрат, соискатель Изотова Е.Д. ответила, что для расчета энергии стационарных состояний и поверхностей переноса H^+ в работе использовался метод теории функционала плотности (DFT) в функционале X3LYP в валентно-расщепленном базисе 6-31G(d)/6-311++G(2d, p) с учетом модели растворителя PCM. Расчеты производились в программе PCGAMESS/Firefly. Данный метод хорошо зарекомендовали себя для воспроизведения геометрических параметров молекулярных структур, однако по данным литературы получаемые энергии действительно имеют завышенные величины с погрешностью в расчетах около 4-5 ккал/М. Полученные значения энергии не следует сопоставлять с экспериментальными значениями (которые для данных систем отсутствуют), они сопоставимы только внутри самой рассматриваемой системы.

На заседании 16 декабря 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Изотовой Екатерине Дмитриевне ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи выявления деталей механизмов ферментативного действия силикатеина- α губок класса *Demospongiae*, а также за разработку способа получения субстратного разнообразия кремниевых кислот на основе построения молекулярных графов, что имеет важное значение для развития биохимии и биофизики начальных этапов биосилификации, которые могут лечь в основу химии силикатов, технологий и производств получения кремнийорганических соединений.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 9 докторов наук по научной специальности 1.5.2 - биофизика (биологические науки), участвовавших в заседании, из 20 человек,

входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 18, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель диссертационного
совета, академик РАН

Гречкин Александр Николаевич

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н.

Пономарева Анастасия Анатольевна

16.12.2021 г.