

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____

Дата защиты 6 февраля 2019 г. протокол № 4

О присуждении Алемасову Николаю Александровичу
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Алемасова Н. А. «Компьютерный анализ связи между конформационными свойствами мутантных форм белка SOD1 и боковым амиотрофическим склерозом с использованием методов молекулярного моделирования» по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, принята к защите 21.11.2018 г, протокол № 33, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Алемасов Николай Александрович, 1985 года рождения. В 2008 году окончил Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск.

С 10.07.2008 г. по 09.07.2011г. обучался в очной аспирантуре ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, в настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории компьютерной протеомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный

исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории компьютерной протеомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель: **Иванисенко Владимир Александрович** – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией компьютерной протеомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Веселовский Александр Владимирович** – доктор биологических наук, заведующий лабораторией структурной биоинформатики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», г. Москва.
2. **Антонец Денис Викторович** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник теоретического отдела Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, р.п. Кольцово, Новосибирская область.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

В своём положительном заключении, подписанном зав. лабораторией

геномной и белковой инженерии ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, д. б. н., профессором РАН Жарковым Д. О. и утверждённом, чл.-корр. РАН, д.х.н., директором ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук Пышным Д.В., указало, что «диссертация Алемасова Николая Александровича «Компьютерный анализ связи между конформационными свойствами мутантных форм белка SOD1 и боковым амиотрофическим склерозом с использованием методов молекулярного моделирования», представленная на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика, полностью отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (редакция № 335 от 21.04.2016 г.), поскольку в ней содержится решение задачи предсказания клинических последствий мутаций в гене SOD1 при боковом амиотрофическом склерозе, а сам автор, несомненно, достоин присуждения искомой степени. Диссертационная работа Алемасова Н. А. обсуждена и отзыв утвержден на семинаре лаборатории геномной и белковой инженерии ИХБФМ СО РАН 6 декабря 2018 г., протокол № 1.»

Соискатель имеет всего 35 публикации, из них 9 - по теме диссертации, общим объёмом 52 страницы, в том числе 4 статьи, опубликованные в научных рецензируемых изданиях, (Scopus, WoS), и 5 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. Alemasov, N. A., Ivanisenko, N. V., Medvedev, S. P., Zakian, S. M., Kolchanov, N. A., Ivanisenko, V. A. Dynamic properties of SOD1 mutants can predict survival time of patients carrying familial amyotrophic lateral sclerosis //Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. 2017. Vol. 35.

- No. 3. P. 645–656. Impact factor: 3.107. Индексируется в базах данных Web of Science, Scopus.
2. Nikolay A. Alemasov, Nikita V. Ivanisenko, Vladimir A. Ivanisenko. Regression model for predicting pathogenic properties of SOD1 mutants based on the analysis of conformational stability and conservation of hydrogen bonds //Journal of Molecular Graphics and Modelling. 2017. Vol. 77. P. 378–385. Impact factor: 1.885. Индексируется в базах данных Web of Science, Scopus.
 3. Nikolay A. Alemasov, Nikita V. Ivanisenko, Srinivasan Ramachandran, Vladimir A. Ivanisenko. Molecular mechanisms underlying the impact of mutations in SOD1 on its conformational properties associated with amyotrophic lateral sclerosis as revealed with molecular modelling//BMC Structural Biology. 2018. Vol. 18. Suppl 1. No. 1. P. 1–14. Impact factor: 1.308. Индексируется в базах данных Web of Science, Scopus.

На диссертацию и автореферат поступило 3 отзыва, все положительные.

Отзывы прислали:

1. Пастушкова Л.Х. – д.б.н, ведущий научный сотрудник лаборатории «Протеомика» ФГБУН ГНЦ РФ Института Медико-Биологических Проблем РАН (г. Москва). «на основе полученных результатов и сделанных в работе выводов могла бы быть выдвинута гипотеза о механизме возникновения заболевания БАС, вызванным мутациями в белке SOD1»
2. Козлов К.Н. – к.б.н, ведущий научный сотрудник НИЛ «Математическая биология, биоинформатика» ИППМ ФГАОУВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (г. Санкт-Петербург). «скрининг нелетучих метаболитов в крови, плазме или моче мог бы оказаться существенно более информативным для изучения метаболических путей и поиска биомаркеров. Использование в качестве

биомаркера единственного вещества может не оказаться селективным критерием диагностики».

3. Захарова М.Н. – д.м.н., доцент, заведующая 6-м неврологическим отделением ФГБНУ Научного центра неврологии, член попечительского совета, эксперт Благотворительного фонда помощи людям с БАС «Живи сейчас» (г. Москва). «Предложенная модель исключает вклад более существенных в отношении выживания пациентов с БАС факторов, таких как нарушения дыхания и глотания. ... Разработанные автором методы «позволяют оценивать степень влияния на белок ранее неизвестных полиморфизмов в ответственных за болезнь генах...». Данное положение представляется необоснованным и требует проведения дополнительных исследований... В диссертации отсутствуют ссылки на российские исследования по теме представленной работы, опубликованные как в зарубежных, так и в отечественных журналах».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области математической биологии и биоинформатики, биохимии, молекулярной биологии и медицины, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтов в нашей стране по исследованиям в области геномики, протеомики, изучению структуры и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов, а также клинической и трансляционной медицине.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований предложен новый подход к прогнозу тяжести заболевания боковым амиотрофическим склерозом у пациентов с мутациями в гене *SOD1*, кодирующем фермент супероксиддисмутаза-1 (SOD1), с помощью регрессионных моделей, построенных на основе конформационных

характеристик пространственных структур мутантных форм белка SOD1.

Предложена гипотеза, что нарушение стабильности водородных связей, формирующихся в сайтах связывания цинка и меди, а также в дисульфидных петлях белка SOD1, способствует агрегации фермента и является фактором, влияющим на тяжесть заболевания у носителей мутаций в гене *SOD1*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые с использованием методов компьютерного моделирования изучены конформационные свойства мутантных форм белка SOD1, встречающихся у пациентов, страдающих боковым амиотрофическим склерозом. Показано, что у данных пациентов в дисульфидной и цинк-связывающей петлях, а также в сайте связывания меди фермента SOD1 изменена стабильность водородных связей. Обнаружено, что значение параметра стабильности водородных связей в мутантных формах белков SOD1, выявленных у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом, коррелирует с временем дожития этих пациентов.

Изучена механическая жёсткость димерной структуры белка SOD1 и выявлена цепочка аминокислотных остатков, которые могут передавать механические колебания между активными центрами в субъединицах белка. Показано, что оценка величины механической жёсткости между гистидином в позиции 46, расположенным в активном центре фермента SOD1, и аминокислотными остатками в позициях исследованных точечных мутаций, достоверно коррелирует с дожитием пациентов, являющихся носителями соответствующих мутаций и страдающих боковым амиотрофическим склерозом.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработан метод оценки конформационных изменений в мутантных формах белков, основанный на

характеристиках стабильности внутри- и межмолекулярных водородных связей, полученных из результатов моделирования методами молекулярной динамики и эластичных сетей. Этот метод может быть использован для оценки степени влияния мутаций на структуру белков в других генах, связанных с заболеваниями, что представляется крайне важным при диагностике пациентов с индивидуальными наборами полиморфизмов.

Построены устойчивые регрессионные модели, связывающие тяжесть заболевания боковым амиотрофическим склерозом у пациентов с мутациями в гене *SOD1* со стабильностью водородных связей в белке SOD1, что позволяет прогнозировать их дожитие. Подобные модели могут быть использованы не только для оценки влияния мутаций на конформационные свойства белков, но и малых химических соединений при их взаимодействии с белком, что является одним из этапов при создании новых лекарственных препаратов, направленных на коррекцию конформационных нарушений в мутантных формах белков.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций медико-биологического профиля, изучающих вопросы молекулярных механизмов возникновения и развития нейродегенеративных заболеваний, а также могут быть использованы в учебном процессе в учреждениях высшего профессионального образования при подготовке специалистов в области системной биологии, молекулярной биофизики и медицинской информатики.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы современные методы компьютерного моделирования, биоинформатики и математической статистики, включая регрессионный и кластерный анализ, методы молекулярной динамики и эластичных сетевых моделей, а также методы множественного выравнивания аминокислотных последовательностей и анализа их эволюционной консервативности.

Регрессионные модели, связывающие дожитие пациентов, страдающих боковым амиотрофическим склерозом, со стабильностью водородных связей в мутантных формах белка SOD1, построены с использованием методов линейной и гребневой регрессии, а также метода «random forest», учитывающих различные группы водородных связей.

Оценка достоверности результатов исследования показала, что в работе использованы современные методы компьютерного моделирования структуры и динамики белка SOD1, позволившие определить конформационные характеристики этого белка, изменение которых в результате мутаций, ассоциированных с заболеванием боковым амиотрофическим склерозом, оказались важными для предсказания дожития пациентов, страдающих этим заболеванием.

Использование различных методов молекулярного моделирования и перекрёстной проверки показало высокую воспроизводимость полученных результатов. Результаты анализа конформационных характеристик мутантных форм белка SOD1 согласуются с опубликованными экспериментальными данными о влиянии этих мутаций на структуру и функцию белка.

Личный вклад автора состоит в разработке и реализации компьютерных подходов, лежащих в основе исследования, проведении компьютерного моделирования, статистической обработке расчётов, а также анализе литературных данных и обсуждении полученных результатов. Основные результаты получены автором самостоятельно.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 3. «Компьютерная геномика, протеомика, иммуномика» и п. 12. «Решение задач медицинской диагностики, прогнозирования исходов заболеваний, оценки эффективности медицинских вмешательств и технологий с помощью

математического аппарата и вычислительных алгоритмов» паспорта специальностей 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация Алемасова Н.А. представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 6 февраля 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Алемасову Николаю Александровичу учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 6 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – 0, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель
диссертационного совета
академик РАН



[Handwritten signature]

В.К. Шумный

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

[Handwritten signature]

Т.М. Хлебодарова

6.02.2019 г.