

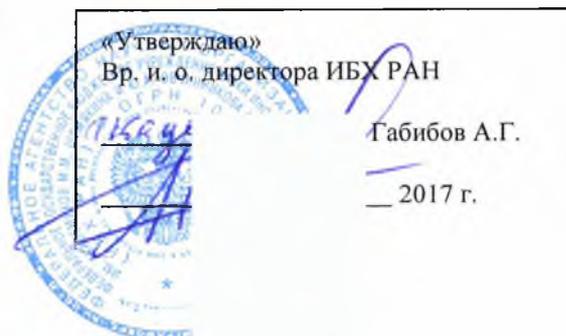


Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук
(ИБХ РАН)

ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997. Для телеграмм: Москва В-437, Биоорганика
телефон: (495) 335-01-00 (канц.), факс: (495) 335-08-12, E-mail: office@ibch.ru, www.ibch.ru
ОКПО 02699487 ОГРН 1037739009110 ИНН/КПП 7728045419/772801001

19.05.17 № 120-217.1-594

на № _____ от _____



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу
Балаева Владислава Викторовича
**«Субстратная специфичность нуклеозидфосфорилаз NP-II семейства по
результатам рентгеноструктурного анализа и компьютерного
моделирования»,**
представленную на соискание учёной степени кандидата физико-
математических наук по специальности
01.04.18 — «Кристаллография, физика кристаллов».

Диссертационная работа Балаева Владислава Викторовича относится к сфере структурной биологии — науке, изучающей пространственное строение биологических молекул, в первую очередь биополимеров, и их взаимодействия друг с другом. Одной из центральных проблем молекулярной биологии в целом является проблема межмолекулярного распознавания, и структурная биология верно служит изучению и решению этой проблемы. Конкретнее, в своей работе Балаев В.В. изучает структуру бактериальных нуклеозидфосфорилаз (НФ) и, в частности, тимидинфосфорилаз (ТФ) — ферментов, играющих важную роль в метаболизме нуклеозидов и составляющих их азотистых оснований. **Актуальность** исследований этих объектов обусловлена тем, что уровень синтеза ТФ в организме человека существенно возрастает попутно развитию множества заболеваний (в частности, аутоиммунных и онкологических), что можно использовать для активации противоопухолевых препаратов *in situ*, а также, ингибируя ее, можно, напротив, защищать вводимые противоопухолевые препараты от расщепления ТФ. В этой связи знание детальной пространственной организации ТФ безусловно может использоваться для дизайна новых противоопухолевых препаратов.

С другой стороны, иногда резистентность опухоли по отношению к химиотерапии вызвана внутриклеточным паразитом микоплазмой, синтезирующим широкоспецифичный фермент пиримидин нуклеозидфосфорилазу (ПнФ), «паразитным» образом меняющим метаболизм вводимых препаратов химиотерапии. Работа Балаева включает не только исследование структур ряда НФ, ТФ и ПнФ, но и изучение основ субстратной специфичности этих ферментов и начальные стадии дизайна и/или поиска веществ, способных селективно

ингибировать «чужую» ПнФ, не затрагивая «свою» ТФ. Такое видение проблемы и полученные результаты имеют **бесспорное фармакологическое и медицинское значение**, потому что могут использоваться в дальнейшем для создания более качественных протоколов химиотерапии и других видов лечения. Предположительно, результаты могут быть востребованы в таких научных учреждениях как НИИ Биомедицинской химии РАН и в таких фармакологических компаниях как Биокад, Новартис, Астра Зенека и др.

Диссертация изложена на 134 страницах. Во введении содержится обоснование актуальности диссертационной работы, отмечается ее новизна, научно-практическая значимость, а также формулируются положения, выносимые на защиту.

В литературном обзоре автором освещаются такие вопросы как участие пири미диносфорилаз в патологических процессах человеческого организма; описаны работы по структурным исследованиям пириимидинфосфорилаз; приводятся результаты исследований по разработке потенциальных ингибиторов этих ферментов.

Методическая часть в подробностях описывает химические материалы и реактивы, молекулярно-биологические процедуры, кристаллизационную работу и решение пространственных структур, а также компьютерные методики исследования. Это большая работа по биотехнологическому получению этих белков, их кристаллизации, съемке на синхротроне и «решению» структур проделана автором лично, что бесспорно указывает на его высокую квалификацию.

Глава с результатами содержит 12 параграфов, во всех деталях описывающих большой объем проделанной работы. Автором всесторонне исследуются механизмы функционирования пириимидинфосфорилаз, и удается успешно сочетать результаты рентгеноструктурного анализа и молекулярного моделирования.

Все представленные в работе результаты являются новыми и научно весомыми. Прежде всего, **автор установил пространственное строение семи 3D структур и комплексов различных бактериальных ТФ, ПнФ и уридинфосфорилазы (УФ)** как в свободном состоянии, так и в комплексах с субстратами и псевдосубстратами методом рентгеноструктурного анализа. На основании полученных результатов автором делается вывод о механизмах субстратной специфичности тимидинфосфорилаз.

Далее, **автор методами компьютерного моделирования установил причину субстратной специфичности ПнФ** по сравнению с ТФ и выявил соединение, в перспективе способное стать **селективным ингибитором лишь одного из этих родственных ферментов**. В дополнение к этому, Балаев В.В. устанавливает **наличие в ферментах дополнительных сайтов связывания**, которые можно использовать для аллостерического воздействия на ферменты. С использованием современных методик компьютерных расчетов автором устанавливается способность одного из дополнительных сайтов связывать неконкурентный ингибитор ТФ, а второго буферизировать бактериостатический антибиотик.

Завершает основную часть глава с выводами, которые полностью обоснованы и вытекают из полученных результатов.

Список литературы содержит 199 пунктов. В работе 36 красивых цветных картинки. Автореферат корректно и полностью отражает содержание работы. Вся работа (и диссертация, и автореферат) грамотно написаны и симпатично оформлены, в соответствии со всеми правилами оформления диссертационных работ.

Результаты работы хорошо опубликованы и доложены на конференциях. В списке публикаций находится четыре статьи в научных журналах — таких как *Crystallography reports* (ИФ: 0.561) и *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications* (ИФ: 0.647). Впрочем, следует отметить, что, по нашему мнению, такие результаты могли бы быть опубликованы и в журнале с более высоким импакт-фактором.

По диссертации можно сделать несколько замечаний:

1. Видимо, бактериальные ферменты являются хорошим модельным объектом, но работа была бы гораздо интереснее, если бы объектом изучения стала человеческая тимидинфосфорилаза. В этом случае разработка селективного ингибитора ПнФ по отношению к ТФ человека имела бы бесспорное практическое значение.
2. Кое-где допущена неточность формулировок например,
 - i. не используется выражение «первичная последовательность» — правильно говорить «аминокислотная последовательность» или «первичная структура»;
 - ii. неверно говорить «гомология 48%», поскольку гомология — это биологический феномен, означающий единство эволюционного происхождения, и она либо есть, либо нет. В свою очередь, заявление о гомологии может быть основано на высоком сходстве аминокислотных последовательностей белков.
3. Несмотря на в целом аккуратное оформление, в диссертации присутствует некоторое количество пунктуационных ошибок и опечаток.

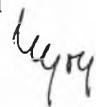
Впрочем, эти замечания не снижают хорошего впечатления от большой и аккуратно проделанной работы, безусловно заявляющей о высокой научной квалификации соискателя.

Таким образом, диссертация Балаева Владислава Викторовича является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи субстратной специфичности ферментов нуклеозидфосфорилаз, что имеет существенное значение для биомедицинской отрасли. По актуальности, научной новизне и практической значимости выполненной работы диссертация удовлетворяет требованиям ВАК России, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Балаев Владислав Викторович заслуживает присвоения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.18 - кристаллография, физика кристаллов.

Диссертационная работа Балаева В.В. «Субстратная специфичность нуклеозидфосфорилаз NP-II семейства по результатам рентгеноструктурного анализа и компьютерного моделирования», заслушана и обсуждена на заседании межлабораторного семинара Отдела структурной биологии Института биоорганической химии РАН, протокол №1 от 10 мая 2017 года. Отзыв заслушан и утвержден на этом же заседании.

Отзыв составил:

с.н.с. лаборатории моделирования биомолекулярных систем
Института биоорганической химии РАН, к.ф.-м.н.



А.О. Чугунов

Адрес: 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
E-mail: batch2k@yandex.ru.
Тел.: +7-495-336-20-00.

15 мая 2017 г.