



МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Представление диссертации на соискание учёной степени доктора физико-математических наук по
специальности 03.01.09 Математическая биология, биоинформатика

Интегративное моделирование структуры и динамики биомакромолекулярных
комплексов

Выступающий:
Шайтан Алексей Константинович

Научный консультант: академик РАН, д.б.н. М. П. Кирпичников

Москва, 2021

Содержание

1 Введение

- Цель и задачи работы
- Положения, выносимые на защиту

2 Глава 1. Методы молекулярного и интегративного моделирования в структурной биологии.

- Методы моделирования: возможности и ограничения
- Интегративные подходы

3 Глава 2. Применение методов молекулярной динамики для изучения нуклеосом.

4 Глава 3. Интегративное моделирование с применением данных экспериментов по футпринтингу ДНК.

5 Глава 4. Моделирование комплексов нуклеосом с белками хроматина.

6 Глава 5. Интегративное моделирование амилоидоподобных фибрилл.

7 Заключение

- Обсуждение результатов
- Выводы работы
- Основные публикации

Цель и задачи работы

Целью данной работы является разработка интегративных подходов к построению и методов анализа структурно-динамических моделей больших ДНК-белковых комплексов и амилоидоподобных фибрилл.

В работе поставлены и решены следующие основные **задачи**:

- ① Разработать подходы к интегративному моделированию ДНК-белковых комплексов методом молекулярной динамики.
- ② На основе различных экспериментальных данных разработать интегративные подходы к моделированию и верификации моделей комплексов ДНК и белков.
- ③ Для интегративного моделирования биомакромолекулярных комплексов разработать методы анализа экспериментальных данных по расщеплению ДНК гидроксильными радикалами.
- ④ Разработать подходы и методы построения моделей нуклеосом с белками хроматина.
- ⑤ Разработать и применить интегративные подходы по построению атомистических моделей амилоидоподобных фибрилл.

Положения, выносимые на защиту

- 1 Для построения структурно-динамических моделей сложных биомакромолекулярных комплексов концептуально обосновано применение новых интегративных подходов на основе сочетания методов атомистического и огрубленного молекулярного моделирования, методов учета разнородных экспериментальных данных рентгеноструктурного анализа, атомно-силовой и электронной микроскопии, футпринтинга ДНК, ИК-, КД-спектроскопии, измерений расстояний между флуоресцентными метками на основе эффекта Ферстеровского резонансного переноса энергии.
- 2 С использованием разработанного интегративного подхода возможно создание атомистических моделей нуклеосом и комплексов нуклеосом с белками хроматина, при этом учет симметрии белковых комплексов позволяет значительно повысить точность построения молекулярных моделей на основе данных футпринтинга ДНК.
- 3 Интегративное моделирование позволяет воспроизвести на атомистическом уровне функциональную динамику нуклеосом, важную с точки зрения эпигенетической регуляции функционирования генома, включая крупномасштабные конформационные перестройки структуры ДНК-белковых комплексов (углы входа-выхода ДНК в нуклеосоме, диффузия гистоновых хвостов вдоль ДНК), а также позволяет обнаружить новые моды динамической подвижности, связанные с изменением конформации ДНК, перестройкой взаимодействий гистоновых хвостов, деформацией глобуллярных доменов гистонов.
- 4 Разработанный подход интегративного моделирования применим для построения молекулярных моделей амилоидоподобных фибрилл, реконструкции укладки пептидов в фибриллах и установления связи между морфологией фибриллы и межмолекулярной укладкой пептидов.

Задача моделирования биомолекул



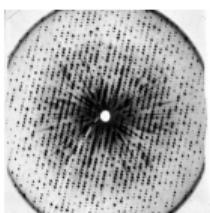
М. Перуц, Д.К. Кендрю



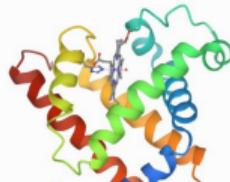
Б.К. Вайнштейн



Дж. Д. Бернал



Дифракционная картина белка



Моделирование
по экспериментальным
данным

Имитационное
моделирование
(molecular simulations)



Компьютер ENIAC, 1947

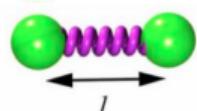
Суперкомпьютер
Ломоносов-2, 2015

Методы молекулярной механики и динамики

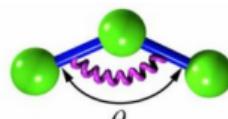
Полноатомное приближение

$$U(\{\vec{r}_i\}) = \sum_{bond, ang} \frac{1}{2} k(x - x_0)^2 + \sum_{tors} \frac{1}{2} V_n [1 + \cos(n\varphi - \varphi_0)] + \sum_{i,j}^N \left\{ 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right\} f_{ij}$$

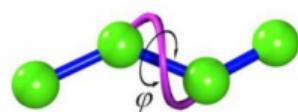
Численное решение уравнений движения
($\vec{F} = m\vec{a}$)



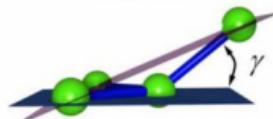
Валентные связи



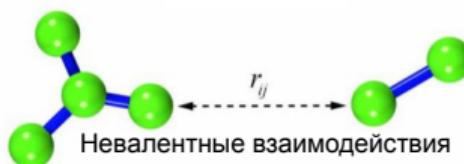
Валентные углы



Торсионные углы



Ложноторсионные углы



Невалентные взаимодействия

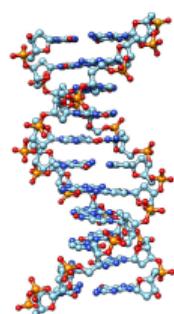
Методы молекулярной механики и динамики

Огрубленное приближение (пример ДНК)

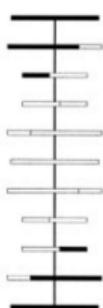
$$F_k(\{\theta_j^k\}) = F_0 + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^6 f_{ij} \Delta\theta_i^k \Delta\theta_j^k, \quad \Delta\theta_i^k = (\theta_i^k - \hat{\theta}_i^k)$$

Применение метода Монте-Карло

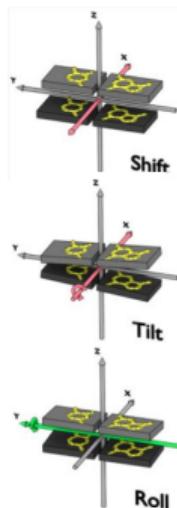
Двойная спираль
B-ДНК



Полноатомное
представление



Огрубленное
представление



Проблемы моделирования биомакромолекулярных комплексов

Большой размер \iff Структурный полиморфизм

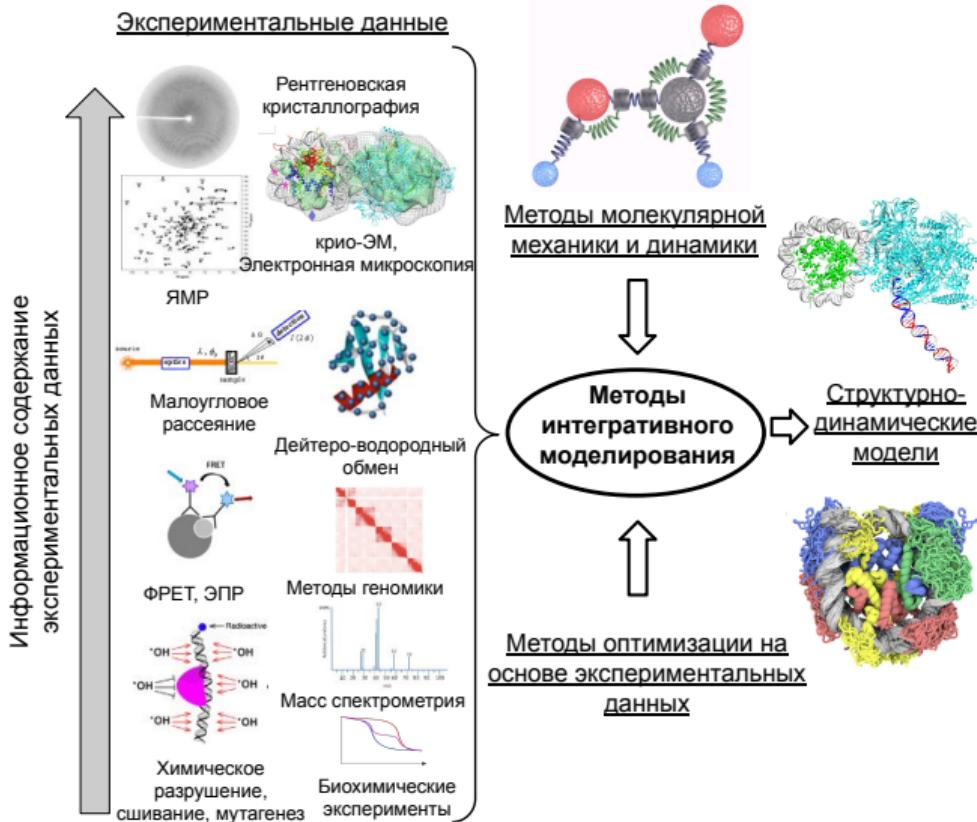
Экспериментальные ограничения

- Сложность кристаллизации (PCA)
- Сложность деконволюции усредненного сигнала от набора конформаций
- Сложность детекции и обработки сигнала (ЯМР)
- Неустойчивость комплексов

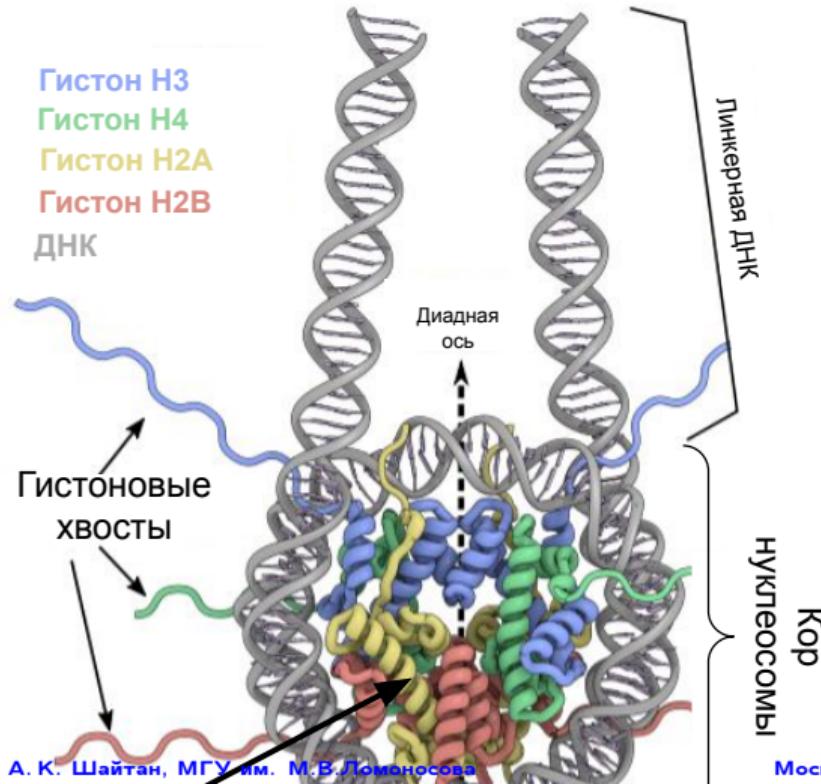
Вычислительные ограничения

- Ограничены времена моделирования
- Времена функциональной динамики комплексов существенно больше
- Ограниченная точность силовых полей
- Чувствительность конформаций комплексов к точности параметров моделирования

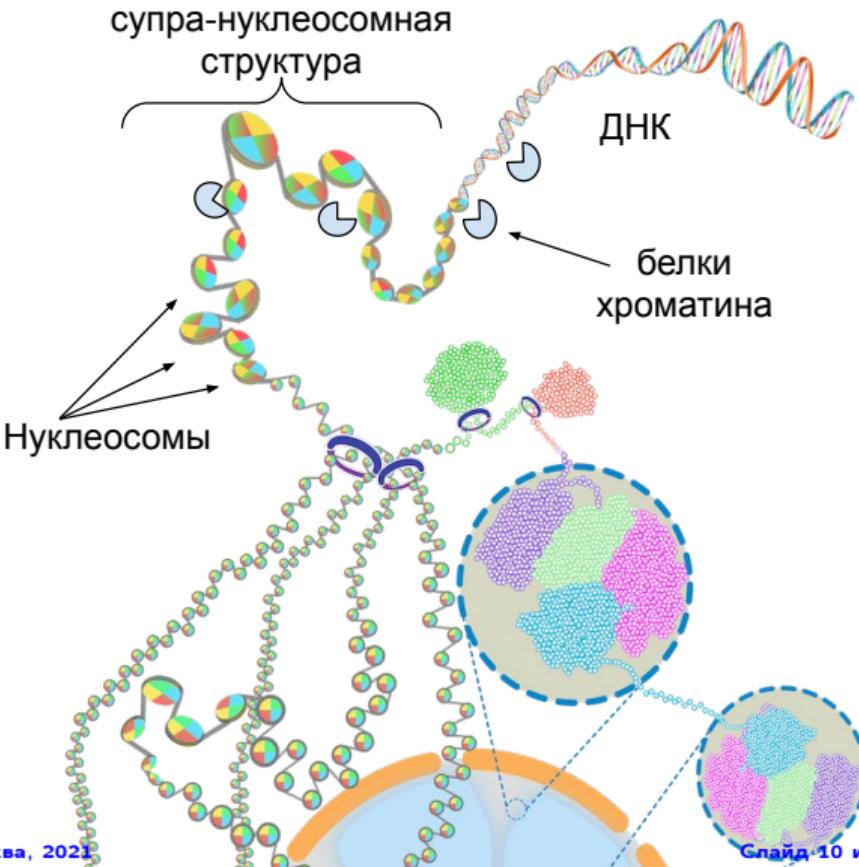
Интегративные подходы



Проблема понимания структуры хроматина



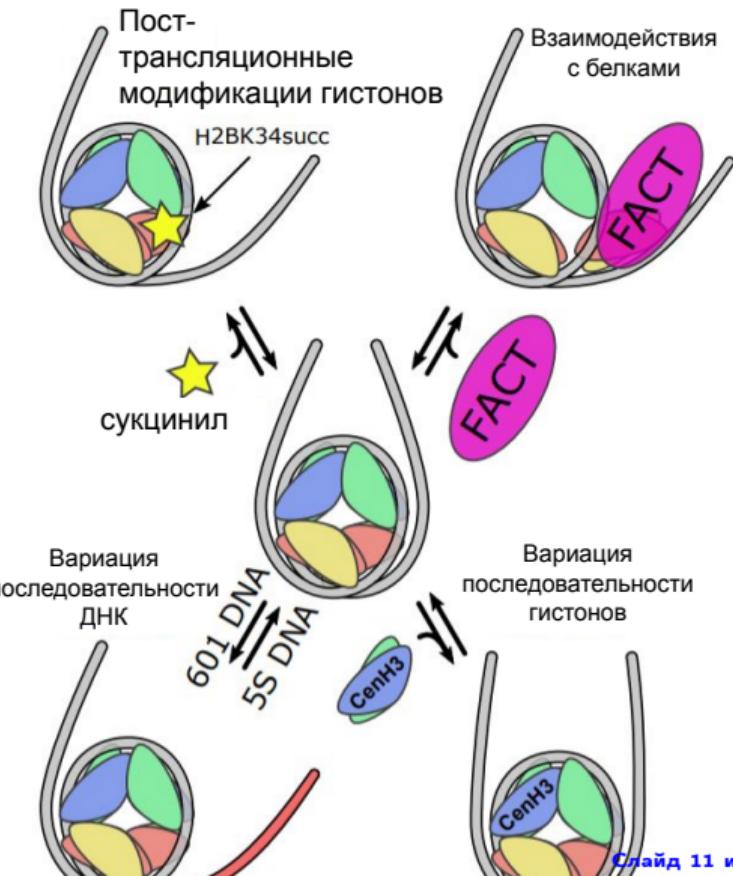
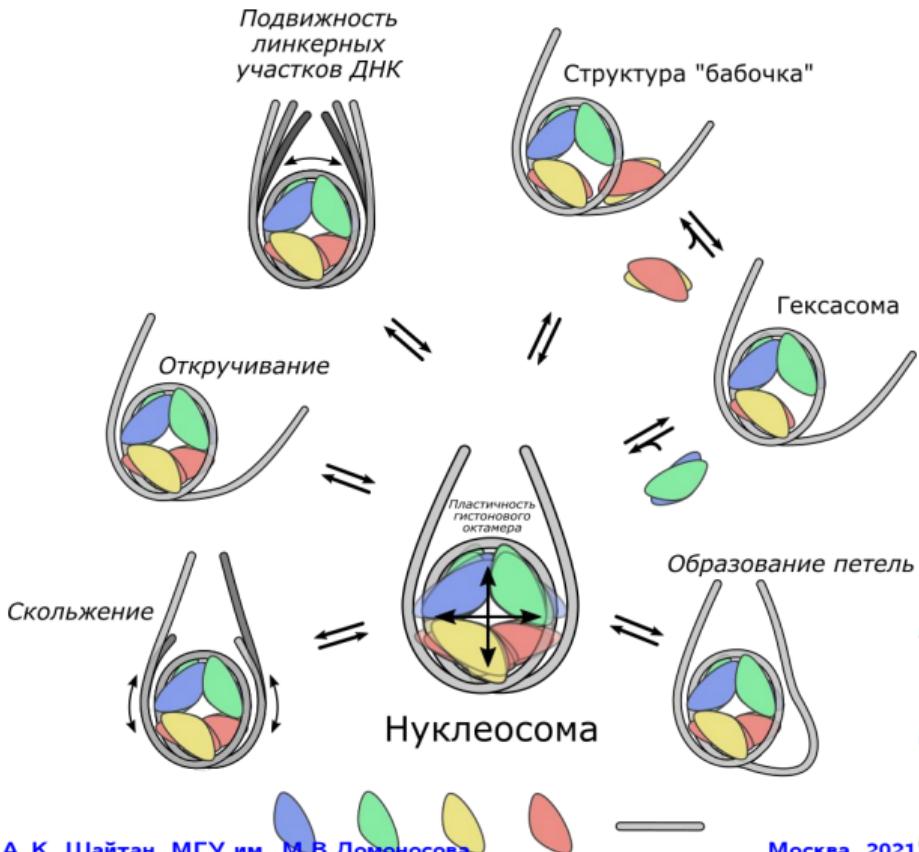
А. К. Шайтан, МГУ им. М. В. Ломоносова



Москва, 2021

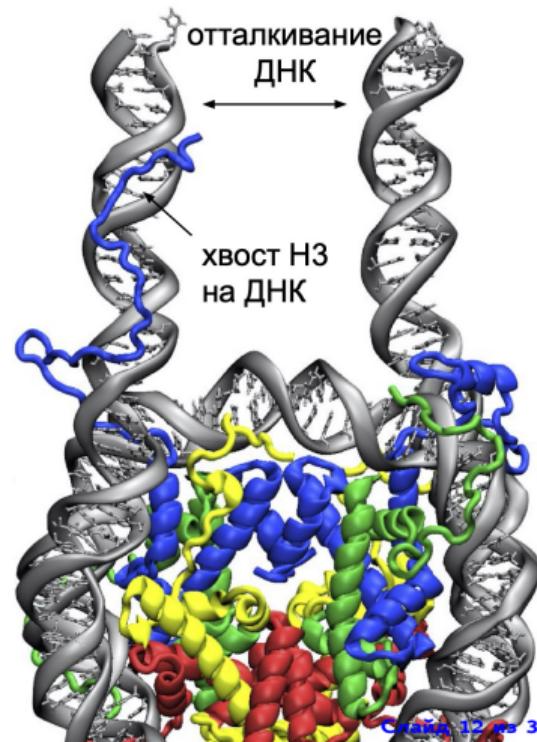
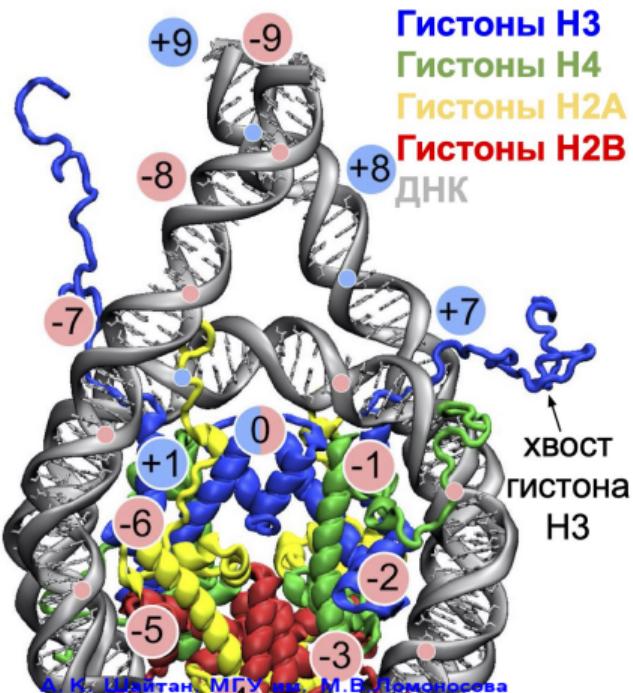
Слайд 10 из 36

Проблема динамики нуклеосом



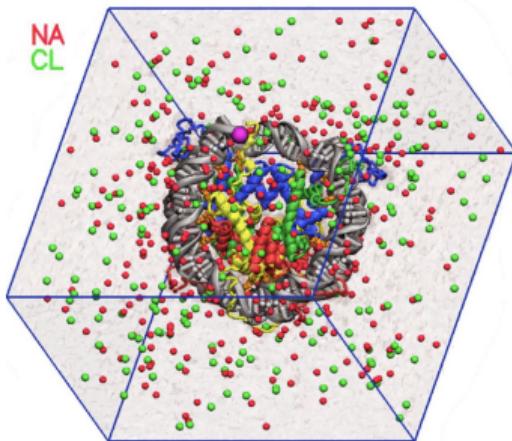
Полноатомные расчеты нуклеосом методом МД

Расчет нуклеосомы с линкерной ДНК на масштабе 1 мкс

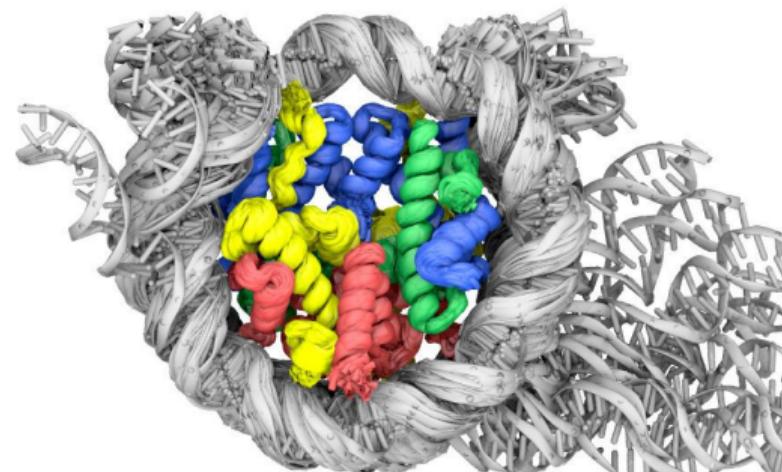


Мульти-микросекундные МД расчеты нуклеосом

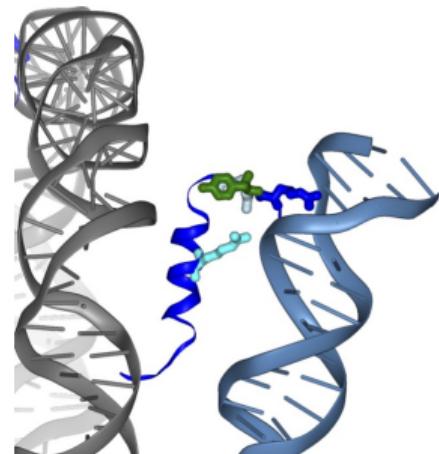
Расчет коровой частицы нуклеосомы на масштабе > 10 мкс



Расчетная система в растворителе

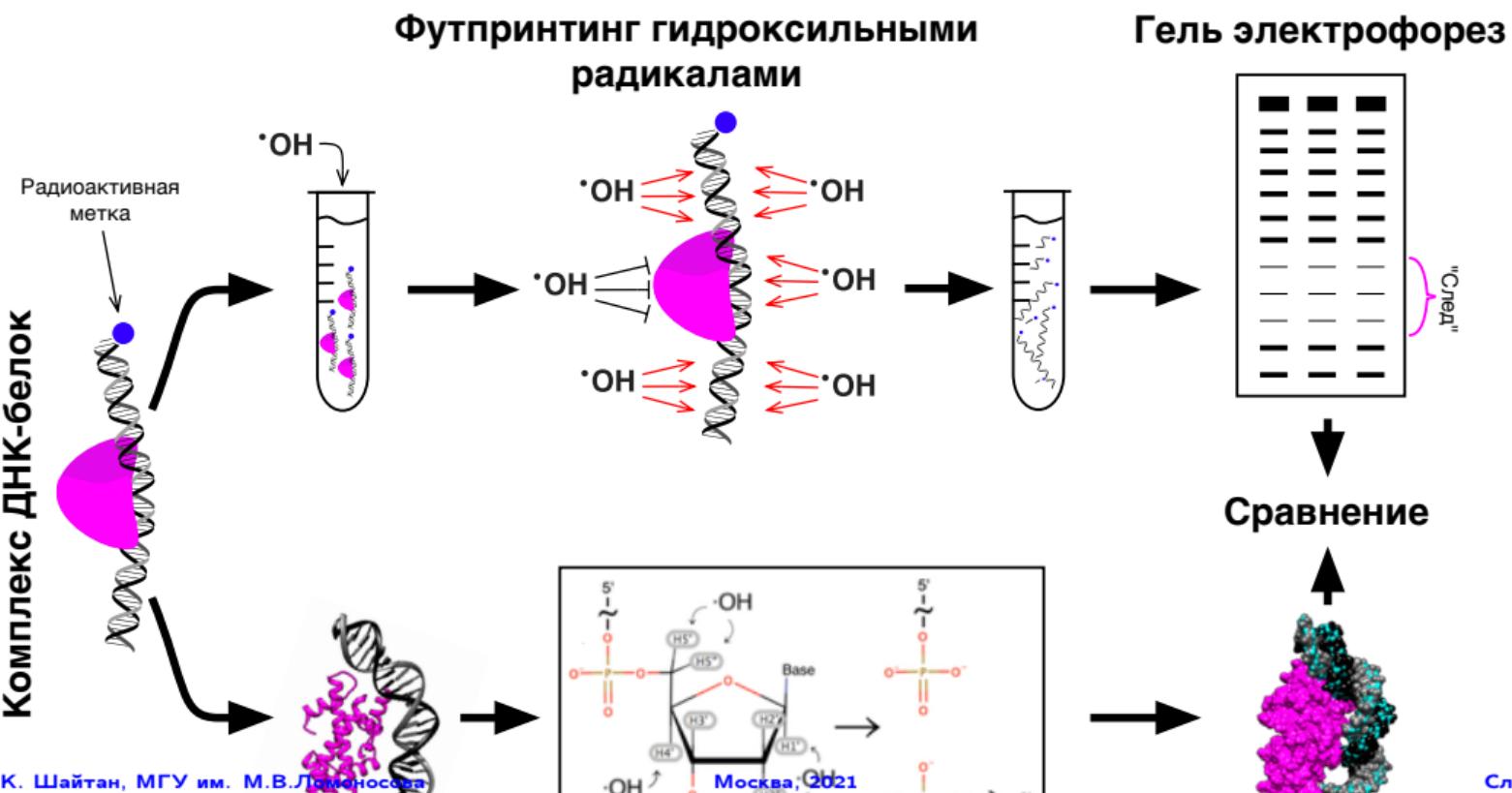


Динамика системы

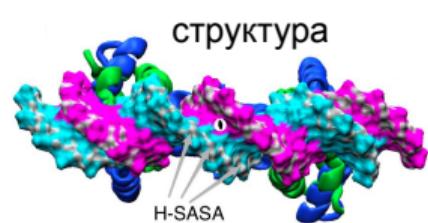
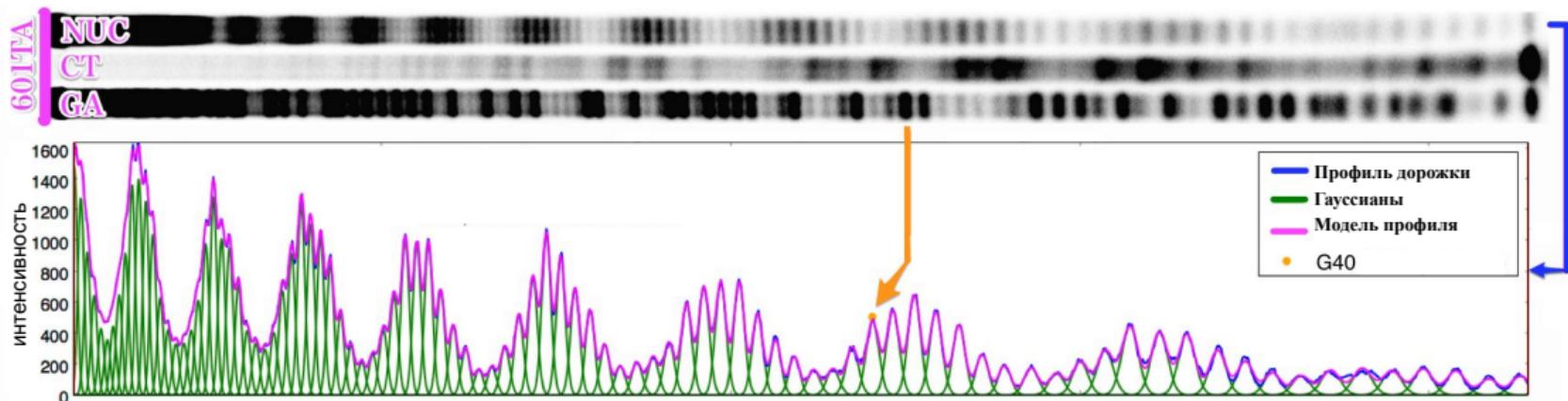


Динамика гистонов влияет на откручивание ДНК

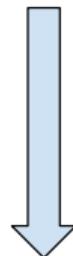
Метод гидроксильного футпринтинга



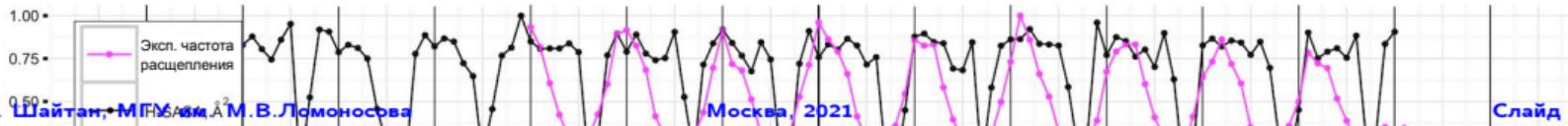
Проблема интерпретации данных футпринтинга ДНК



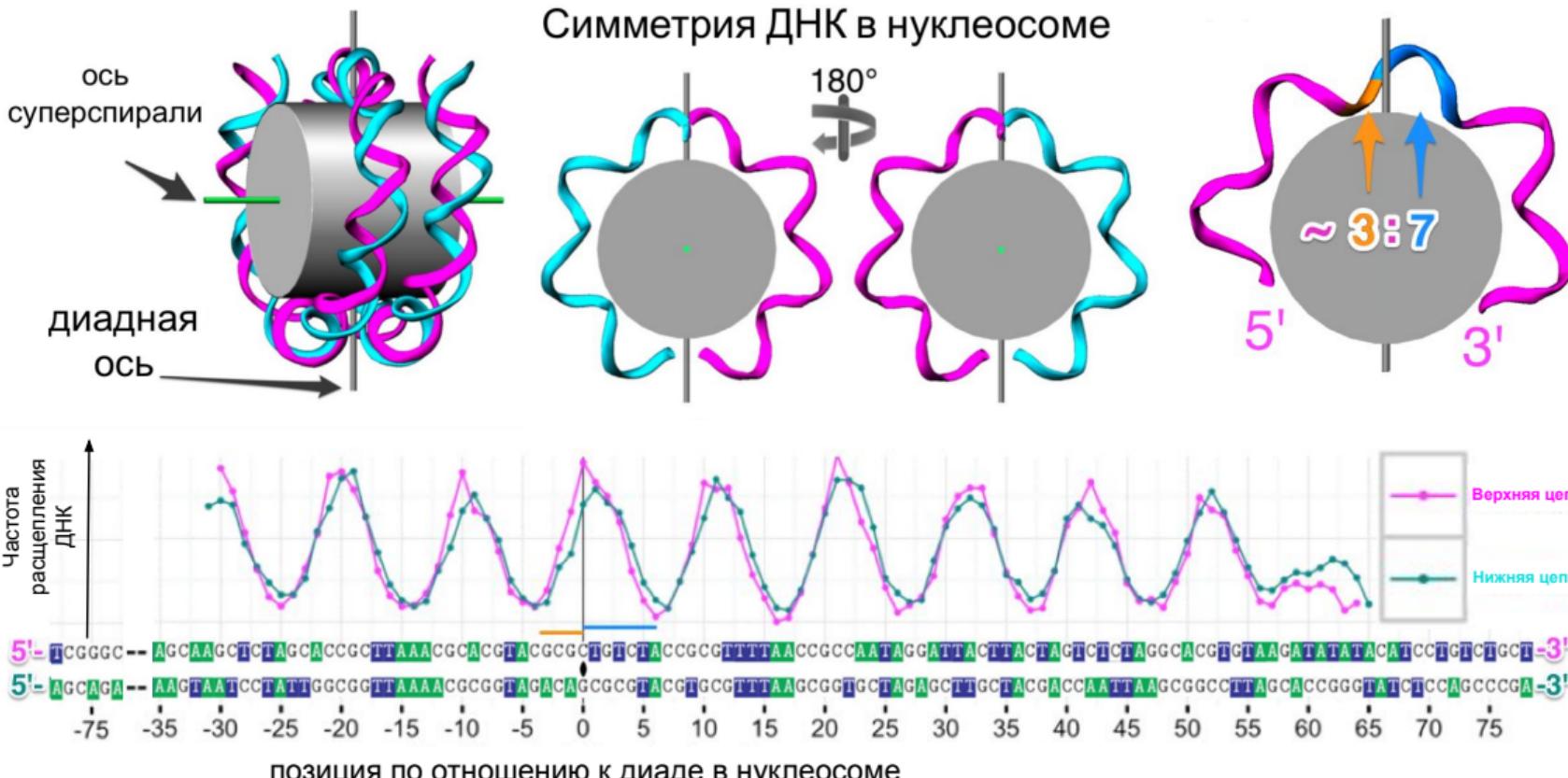
теоретические
профили



Разработан комплекс программ
HYDROID для анализа данных
<https://github.com/ncbi/HYDROID>



Определение позиционирования ДНК на нуклеосоме



Реконструкция неизвестной структуры нуклеосомы

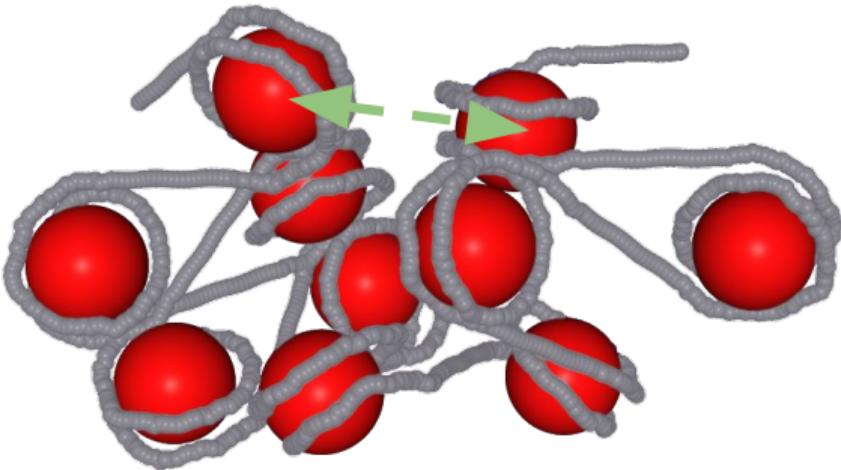
Задача: реконструкция структуры центромерной нуклеосомы пекарских дрожжей *S. cerevisiae*.

- На рисунке модель нуклеосомы третьей хромосомы дрожжей.
- Необычный сиквенс ДНК с А-траками функционально важен.

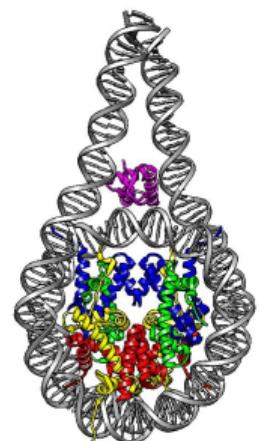
Проблема понимания супрануклеосомных структур

Атомистическое представление

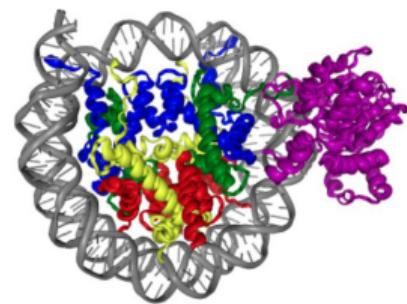
Огрубленное представление



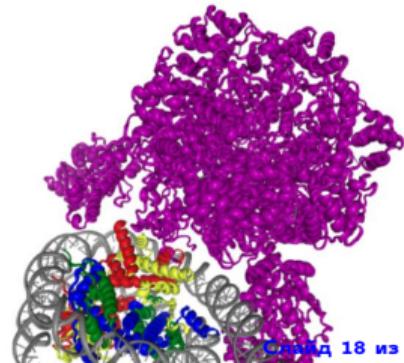
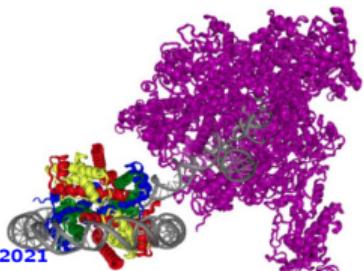
Хроматин в представлении бусин на нити.
Красные шары - октамеры гистонов, синяя нить - ДНК.



с гистоном H1



с ремоделером Snf2

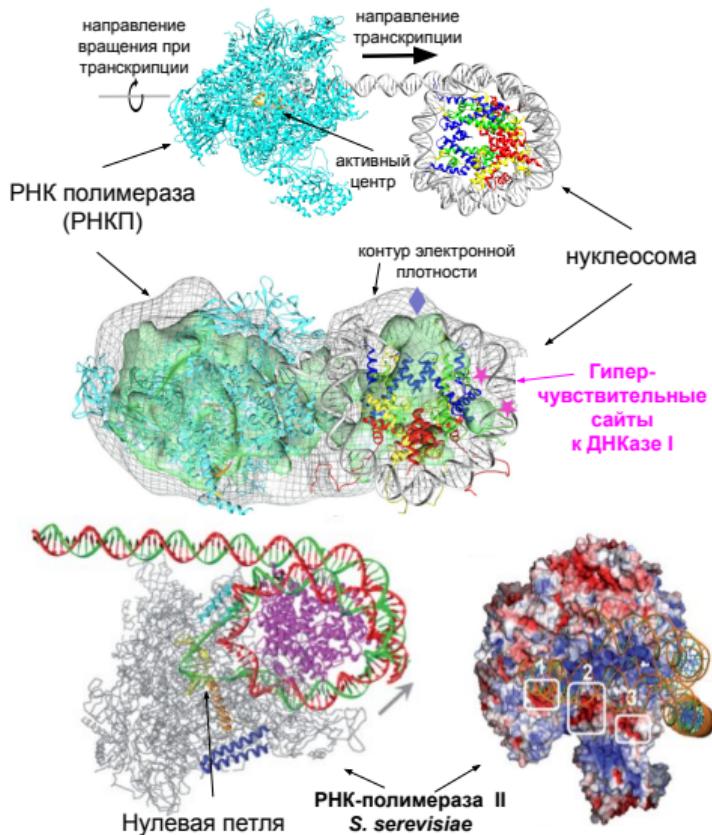


Комплексы нуклеосом и РНК-полимераз

Принципиальная
схема движения
РНКП по ДНК к
нуклеосоме

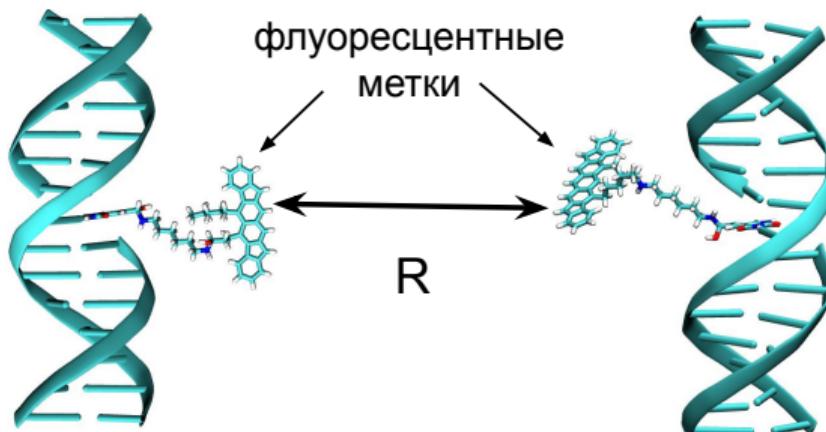
Модель
комплекса в
положении +42
после входа
РНКП в
нуклеосому

Модель
комплекса в
положении +49
(нулевая петля)



Использование данных FRET

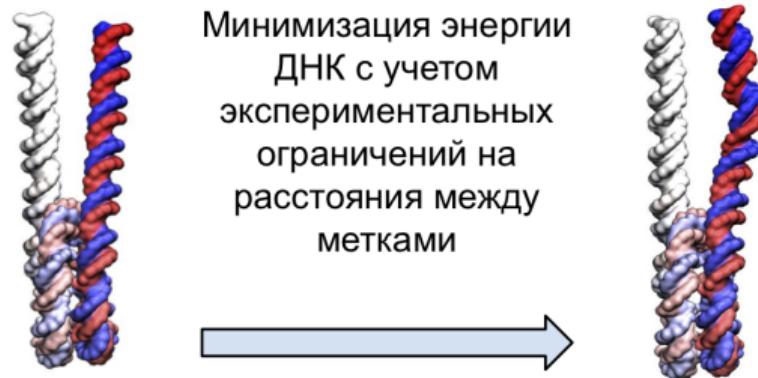
Эффект Ферсторовского резонансного переноса
энергии



Эффективность переноса энергии с донора на
акцептор

$$E_{FRET} = \frac{1}{1 + (R/R_0)^6}$$

Определение конформации линкерной ДНК

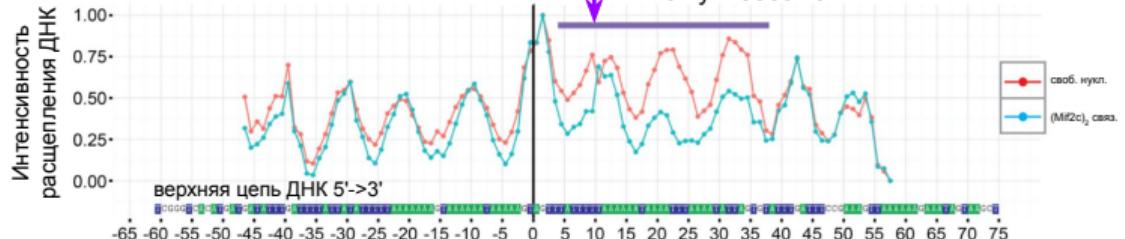
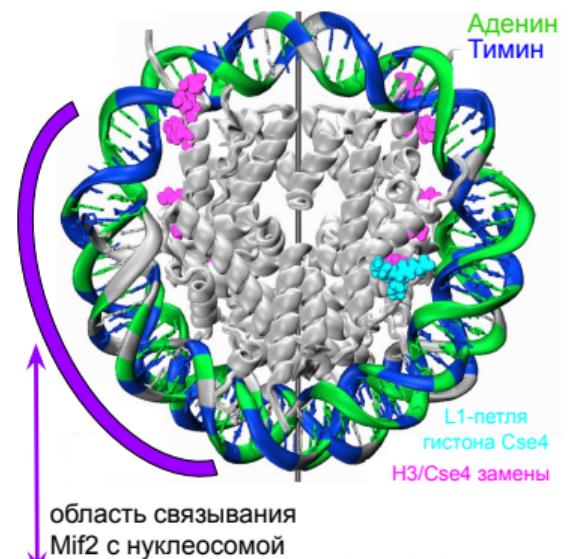
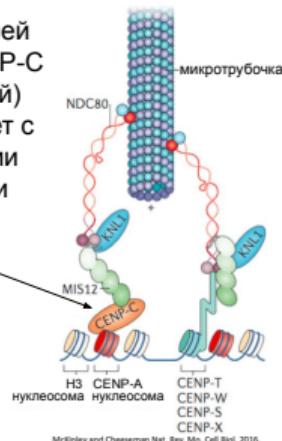


Конформационные перестройки при взаимодействии с комплексом белков FACT



Использование данных футпринтинга

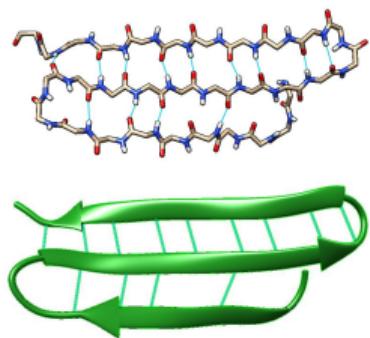
Белок внутренней кинетохоры CENP-C (Mif2 у дрожжей) взаимодействует с центромерными нуклеосомами



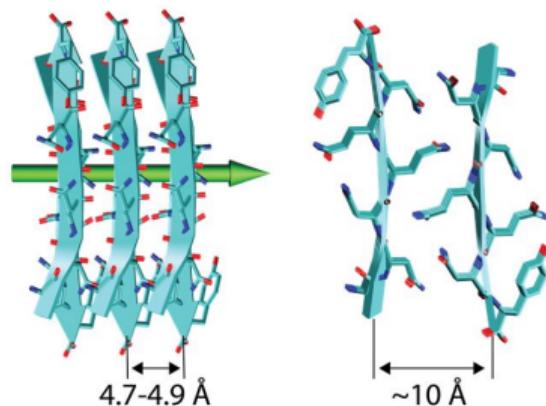
Сравнительный футпринтинг ДНК нуклеосомы и ее комплекса с белком Mif2

Проблема понимания структуры амилоидных фибрилл

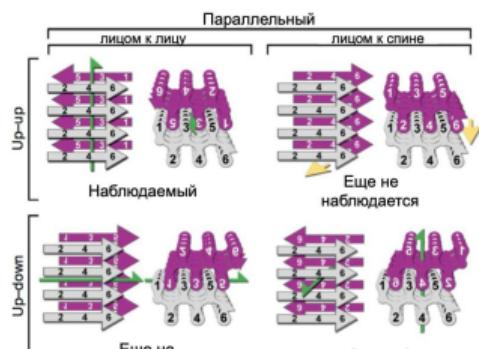
Бета-листы



Амилоидные фибриллы

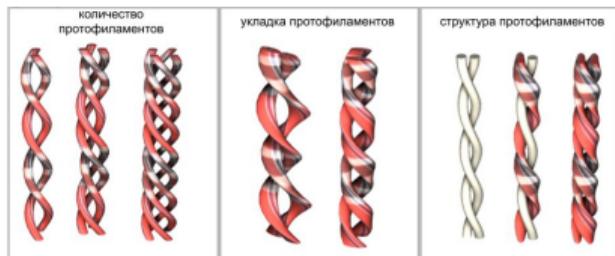


Кросс-бета-мотивы

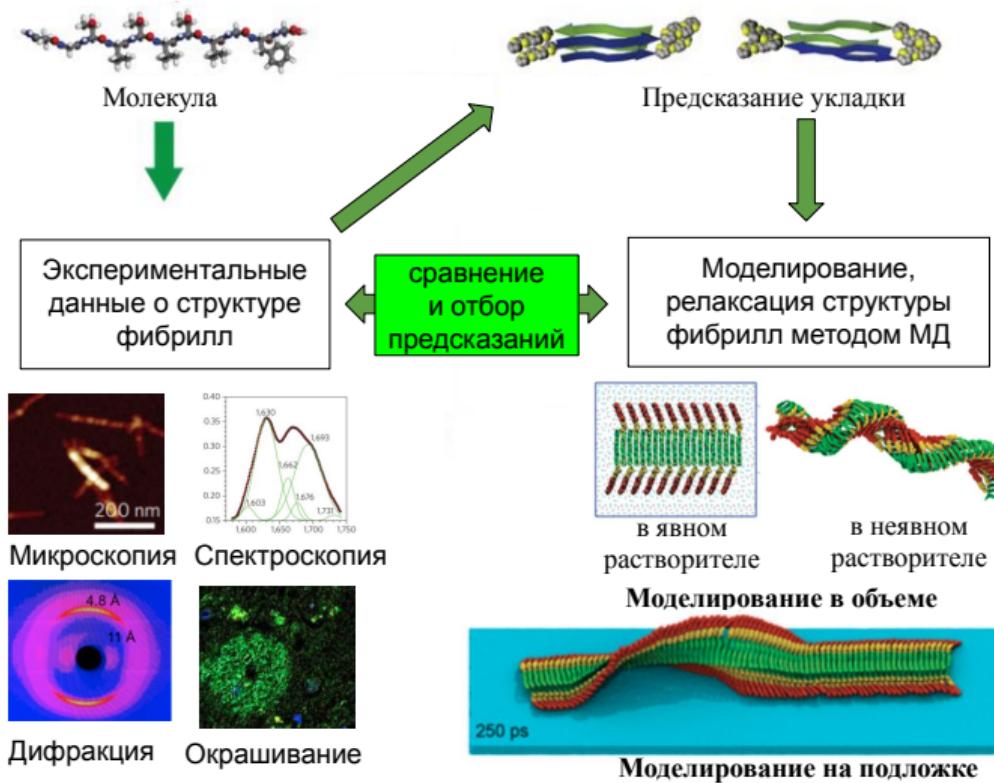


M. R. Sawaya et al. Nature. 2007.

Полиморфизм амилоидных фибрилл

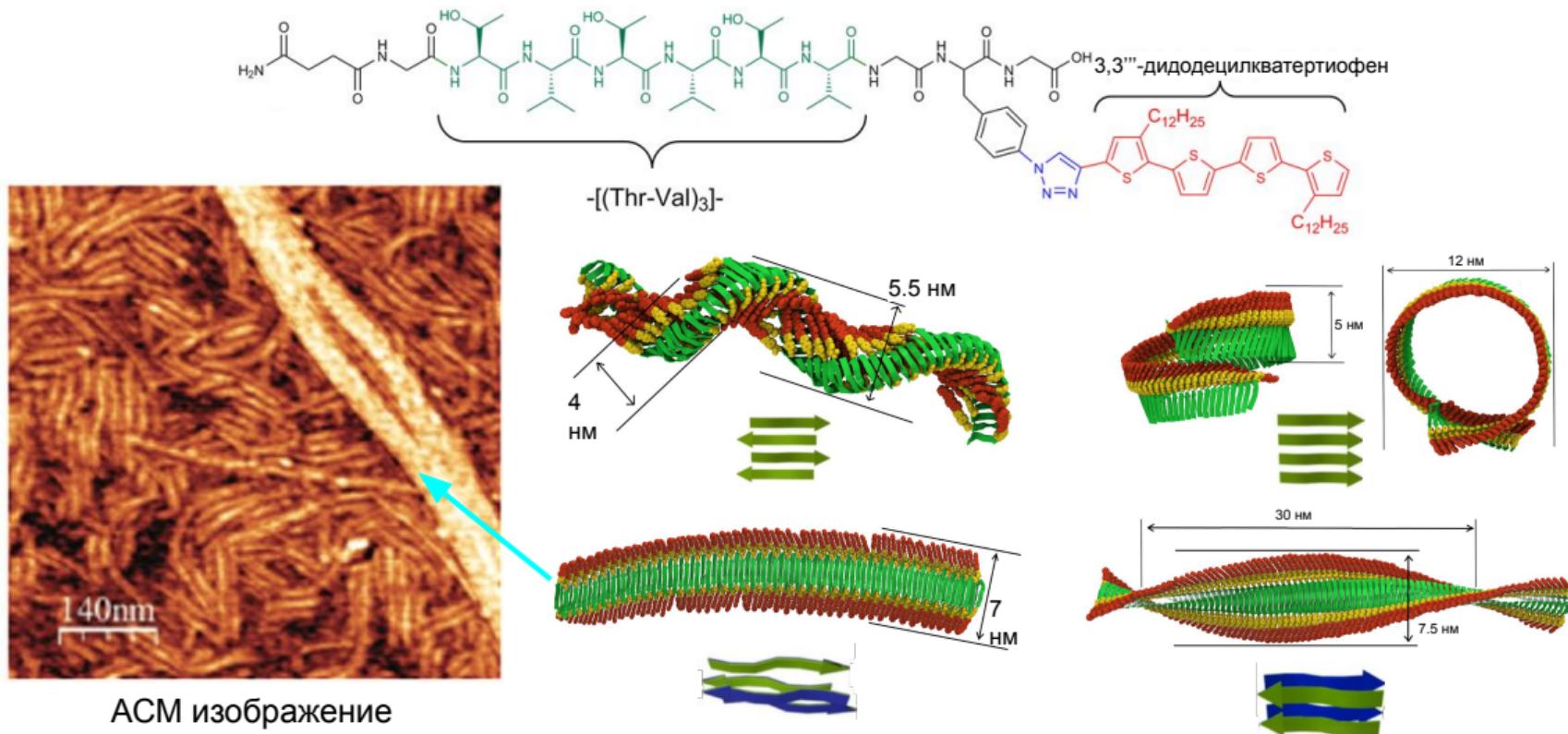


Интегративный подход к моделированию фибрилл

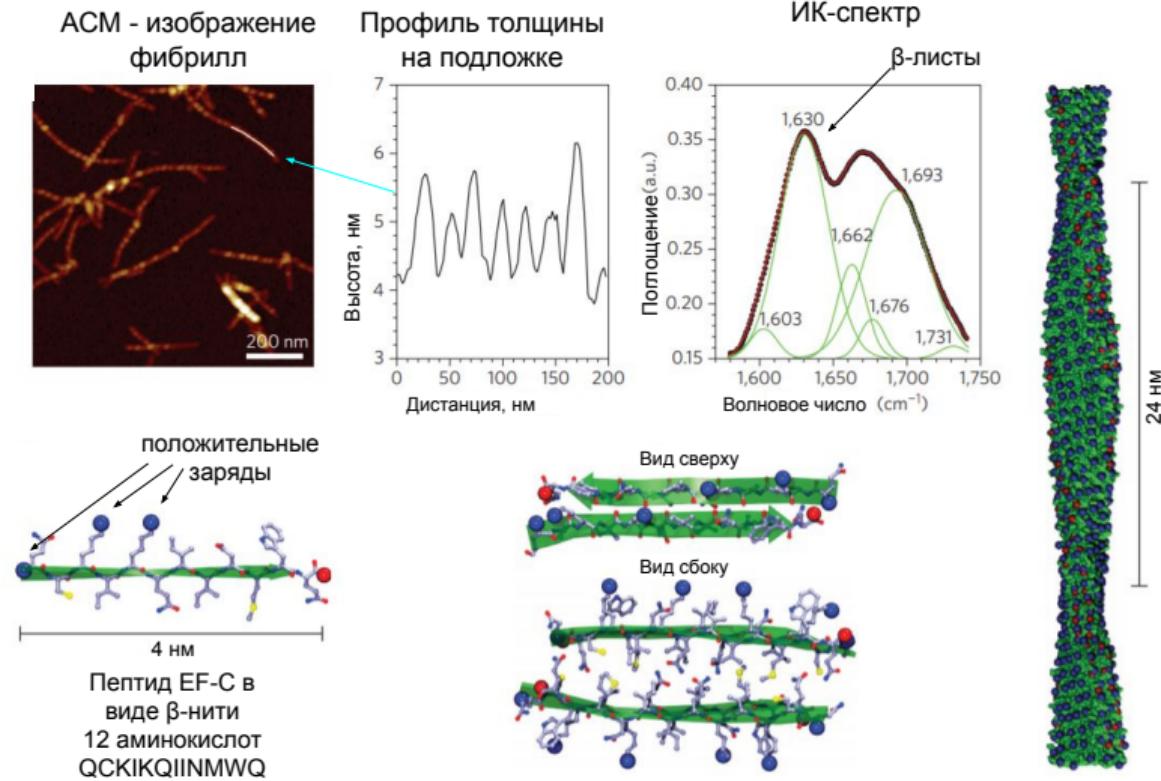


Нанопровода на основе амилоидоподобных фибрилл I

Нанопровода на основе амилоидоподобных фибрилл II



Фибриллы EF-C из белка gp120



Обсуждение результатов

- Метод МД является мощным инструментом, однако его применение ограничено вычислительными ресурсами и качеством параметризации моделей. Для преодоления ограничений можно использовать интегративное моделирование.
- Логика построения интегративных подходов следующая. При моделировании структурных элементов и параметров системы, на структуру и значения которых может сильно повлиять неточность силовых полей, необходимо дополнительно привлекать экспериментальные данные. Вместе с тем, моделирование конформационно устойчивых структурных элементов можно производить на основании данных силовых полей.
- В интегративном моделировании весьма полезным походом является использования соображений структурной симметрии, мульти尺度ный подоход с комбинацией атомистического и огрубленного представлений молекулярных систем.

Выводы работы

- 1 Разработан интегративный подход и программные решения для мульти尺度ного моделирования комплексов ДНК и белков, в котором используются различные данные экспериментов по ДНК футпринтингу, электронной микроскопии, FRET-микроскопии и комбинированное представление ДНК в атомистическом и в динуклеотидном приближении.
- 2 В микросекундном временном диапазоне определены параметры крупномасштабных функциональных конформационных изменений структуры нуклеосом: вычислен ансамбль конформаций линкерной ДНК, установлено влияние электростатического отталкивания на геометрию сегментов линкерной ДНК, определено характерное время диссоциации концов нуклеосомальной ДНК от гистонового октамера (10 мкс), установлены флуктуационные структурные механизмы образования дефектов кручения ДНК, переключения конформаций гистоновых хвостов.
- 3 Обработка экспериментальных данных по расщеплению ДНК гидроксильными радикалами (футпринтинга ДНК) позволила вычислить вероятность расщепления ДНК для каждого нуклеотида. Показано, что профили расщепления ДНК гидроксильными радикалами в нуклеосоме мало зависят от последовательности ДНК, и определяются в основном позиционированием ДНК на нуклеосоме. Предложен алгоритм точного определения положения ДНК в нуклеосоме по данным футпринтинга для двух цепей ДНК на основании положения оси псевдосимметрии.

Выводы работы (продолжение)

- 1 С помощью методов интегративного моделирования были установлены структуры и параметры взаимодействий комплексов нуклеосом с РНК полимеразами, белком CENP-C, гистоном H1, белками комплекса FACT. Установлено, что в положении +49 после входа в нуклеосому РНК полимераза II может формировать компактный комплекс с нуклеосомой, в котором контакты гистонов с ДНК сохраняются по обе стороны активного центра. В модели центромерной нуклеосомы дрожжей определено положение ДНК и установлено, что белок CENP-C взаимодействует с нуклеосомой в районе 20 нуклеотидов от центра симметрии нуклеосомы. Предложены модели конформации линкерных сегментов ДНК при связывании гистона H1. Установлены амплитуды конформационной подвижности ДНК в нуклеосомах при связывании с комплексом FACT.
- 2 Разработанные подходы построения моделей амилоидоподобных фибрилл позволили изучить связь взаимного расположения пептидов в фибриллярных структурах с крупномасштабной морфологией амилоидоподобных фибрилл и таким образом установить структурную организацию филаментов на основе дублок олигомеров кватертиофена и пептида (*Thr – Val*)₃, а также на основе фрагмента белка gp120. Установлено, что рассмотренные амилоидоподобные фибриллы могут образовываться на основе двух взаимодействующих бета-листов, которые формируют либо плоскую ленту, либо левозакрученную ленту с периодом 24-30 нм.

Основные публикации |

1. Histone Octamer Structure Is Altered Early in ISW2 ATP-Dependent Nucleosome Remodeling / A. Hada, S. K. Hota, J. Luo, Y.-c. Lin, S. Kale, A. K. Shaytan, S. K. Bhardwaj, [et al.] // Cell Reports. — 2019. — July 2. — Vol. 28, no. 1. — 282—294.e6. — DOI: 10.1016/j.celrep.2019.05.106. — IF WoS 7.7 - (2,3/0,3).
2. The Effect of Oncomutations and Posttranslational Modifications of Histone H1 on Chromatosome Structure and Stability / M. V. Bass, G. A. Armeev, K. V. Shaitan, A. K. Shaytan // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2019. — July. — Vol. 74, no. 3. — P. 121—126. — DOI: 10.3103/S0096392519030015. — IF RINC 0.76 - (0,7/0,3).
3. Linking Chromatin Composition and Structural Dynamics at the Nucleosome Level / G. A. Armeev, A. K. Gribkova, I. Pospelova, G. A. Komarova, A. K. Shaytan // Current Opinion in Structural Biology. — 2019. — June. — Vol. 56. — P. 46—55. — DOI: 10.1016/j.sbi.2018.11.006. — IF WoS 6.908 - (1,2/0,6).
4. Structural Interpretation of DNA–Protein Hydroxyl-Radical Footprinting Experiments with High Resolution Using HYDROID / A. K. Shaytan, H. Xiao, G. A. Armeev, D. A. Gaykalova, G. A. Komarova, C. Wu, V. M. Studitsky, D. Landsman, A. R. Panchenko // Nature Protocols. — 2018. — Nov. — Vol. 13, no. 11. — P. 2535—2556. — DOI: 10.1038/s41596-018-0048-z. — IF WoS 11.334 - (2,5/2,2).
5. Joint Effect of Histone H1 Amino Acid Sequence and DNA Nucleotide Sequence on the Structure of Chromatosomes: Analysis by Molecular Modeling Methods / T. K. Gorkovets, G. A. Armeev, K. V. Shaitan, A. K. Shaytan // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2018. — Apr. — Vol. 73, no. 2. — P. 82—87. — DOI: 10.3103/S0096392518020025. — IF RINC 0.76 - (0,7/0,3).
6. Molecular Basis of CENP-C Association with the CENP-A Nucleosome at Yeast Centromeres / H. Xiao, F. Wang, J. Wisniewski, A. K. Shaytan, R. Ghirlando, P. C. Fitzgerald, Y. Huang, [et al.] // Genes & Development. — 2017. — Oct. 1. — Vol. 31, no. 19. — P. 1958—1972. — DOI: 10.1101/gad.304782.117. — IF WoS 9.527 - (1,7/0,3).

Основные публикации II

7. Hydroxyl-Radical Footprinting Combined with Molecular Modeling Identifies Unique Features of DNA Conformation and Nucleosome Positioning / A. K. Shaytan, H. Xiao, G. A. Armeev, C. Wu, D. Landsman, A. R. Panchenko // Nucleic Acids Research. — 2017. — Sept. 19. — Vol. 45, no. 16. — P. 9229—9243. — DOI: 10.1093/nar/gkx616. — IF WoS 11.501 - (1,7/1,5).
8. Gribkova, A. K. Investigation of Histone-DNA Binding Energy as a Function of DNA Unwrapping from Nucleosome Using Molecular Modeling / A. K. Gribkova, G. A. Armeev, A. K. Shaytan // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2017. — July. — Vol. 72, no. 3. — P. 142—145. — DOI: 10.3103/S009639251703004X. — IF RINC 0.76 - (0,5/0,2).
9. MS_HistoneDB, a Manually Curated Resource for Proteomic Analysis of Human and Mouse Histones / S. El Kennani, A. Adrait, A. K. Shaytan, S. Khochbin, C. Bruley, A. R. Panchenko, D. Landsman, D. Pflieger, J. Govin // Epigenetics & Chromatin. — 2017. — Dec. — Vol. 10, no. 1. — DOI: 10.1186/s13072-016-0109-x. — IF WoS 5.333 - (2,1/0,5).
10. Dual Active Site in the Endolytic Transglycosylase Gp144 of Bacteriophage phiKZ / O. V. Chertkov, G. A. Armeev, I. V. Uporov, S. A. Legotsky, N. N. Sykilinda, A. K. Shaytan, N. L. Klyachko, K. A. Miroshnikov // Acta Naturae. — 2017. — Vol. 9, no. 1. — P. 7. — DOI: 10.32607/20758251-2017-9-1-81-87. — IF WoS 1.62 - (0,8/0,1).
11. Modeling of the Structure of Protein–DNA Complexes Using the Data from FRET and Footprinting Experiments / G. A. Armeev, T. K. Gorkovets, D. A. Efimova, K. V. Shaitan, A. K. Shaytan // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2016. — Jan. — Vol. 71, no. 1. — P. 29—33. — DOI: 10.3103/S0096392516010016. — IF RINC 0.76 - (0,6/0,2).
12. Armeev, G. A. Nucleosome Structure Relaxation during DNA Unwrapping: Molecular Dynamics Simulation Study / G. A. Armeev, K. V. Shaitan, A. K. Shaytan // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2016. — July. — Vol. 71, no. 3. — P. 141—144. — DOI: 10.3103/S0096392516030020. — IF RINC 0.76 - (0,5/0,2).

Основные публикации III

13. Genomic Profiling of Multiple Sequentially Acquired Tumor Metastatic Sites from an "Exceptional Responder" Lung Adenocarcinoma Patient Reveals Extensive Genomic Heterogeneity and Novel Somatic Variants Driving Treatment Response / R. Biswas, S. Gao, C. M. Cultraro, T. K. Maity, A. Venugopalan, Z. Abdullaev, A. K. Shaytan, [et al.] // Molecular Case Studies. — 2016. — Nov. — Vol. 2, no. 6. — a001263. — DOI: 10.1101/mcs.a001263. — IF WoS 1.750 - (3,1/0,5).
14. HistoneDB 2.0: A Histone Database with Variants—an Integrated Resource to Explore Histones and Their Variants / E. J. Draizen, A. K. Shaytan, L. Marino-Ramirez, P. B. Talbert, D. Landsman, A. R. Panchenko // Database. — 2016. — Vol. 2016. — baw014. — DOI: 10.1093/database/baw014. — IF WoS 2.593 - (1,2/0,6).
15. Structure and Functions of Linker Histones / A. V. Lyubitelev, D. V. Nikitin, A. K. Shaytan, V. M. Studitsky, M. P. Kirpichnikov // Biochemistry (Moscow). — 2016. — Mar. — Vol. 81, no. 3. — P. 213—223. — DOI: 10.1134/S0006297916030032. — IF WoS 1.978 - (1,3/0,1).
16. Shaitan, K. V. The Dynamics of Irreversible Evaporation of a Water–Protein Droplet and the Problem of Structural and Dynamic Experiments with Single Molecules / K. V. Shaitan, G. A. Armeev, A. K. Shaytan // Biophysics. — 2016. — Mar. — Vol. 61, no. 2. — P. 177—184. — DOI: 10.1134/S0006350916020172. — IF SJR 0.226 - (0,9/0,1).
17. Coupling between Histone Conformations and DNA Geometry in Nucleosomes on a Micro-second Timescale: Atomistic Insights into Nucleosome Functions / A. K. Shaytan, G. A. Armeev, A. Gonçarenc, V. B. Zhurkin, D. Landsman, A. R. Panchenko // Journal of Molecular Biology. — 2016. — Jan. — Vol. 428, no. 1. — P. 221—237. — DOI: 10.1016/j.jmb.2015.12.004. — IF WoS 5.04 - (2,0/1,8).
18. Trajectories of Microsecond Molecular Dynamics Simulations of Nucleosomes and Nucleo-some Core Particles / A. K. Shaytan, G. A. Armeev, A. Gonçarenc, V. B. Zhurkin, D. Landsman, A. R. Panchenko // Data in Brief. — 2016. — June. — Vol. 7. — P. 1678—1681. — DOI: 10.1016/j.dib.2016.04.073. — IF WoS 0.97 - (0,5/0,5).

Основные публикации IV

19. Large-Scale ATP-Independent Nucleosome Unfolding by a Histone Chaperone / M. E. Valieva, G. A. Armeev, K. S. Kudryashova, N. S. Gerasimova, A. K. Shaytan, O. I. Kulaeva, L. L. McCullough, [et al.] // Nature Structural & Molecular Biology. — 2016. — Dec. — Vol. 23, no. 12. — P. 1111—1116. — DOI: 10.1038/nsmb.3321. — IF WoS 11.98 - (0,9/0,1).
20. Armeev, G. A. Conformational Flexibility of Nucleosomes: A Molecular Dynamics Study / G. A. Armeev, K. V. Shaitan, A. K. Shaytan // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2015. — July. — Vol. 70, no. 3. — P. 147—151. — DOI: 10.3103/S0096392515030025. — IF RINC 0.76 - (0,6/0,3).
21. Armeev, G. A. Molecular Dynamics Study of the Ionic Environment and Electrical Characteristics of Nucleosomes / G. A. Armeev, K. V. Shaitan, A. K. Shaitan // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2015. — Oct. — Vol. 70, no. 4. — P. 173—176. — DOI: 10.3103/S0096392515040033. — IF RINC 0.76 - (0,5/0,2).
22. Direct Prediction of Residual Dipolar Couplings of Small Molecules in a Stretched Gel by Stochastic Molecular Dynamics Simulations: Direct Prediction of Residual Dipolar Couplings by Stochastic MD Simulations / A. O. Frank, J. C. Freudenberger, A. K. Shaytan, H. Kessler, B. Luy // Magnetic Resonance in Chemistry. — 2015. — Mar. — Vol. 53, no. 3. — P. 213—217. — DOI: 10.1002/mrc.4181. — IF WoS 1.731 - (0,6/0,1).
23. Structural Analysis of Nucleosomal Barrier to Transcription / D. A. Gaykalova, O. I. Kulaeva, O. Volokh, A. K. Shaytan, F.-K. Hsieh, M. P. Kirpichnikov, O. S. Sokolova, V. M. Studitsky // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2015. — Oct. 27. — Vol. 112, no. 43. — E5787—E5795. — DOI: 10.1073/pnas.1508371112. — IF WoS 9.412 - (1,0/0,3).
24. Structural Perspectives on the Evolutionary Expansion of Unique Protein-Protein Binding Sites / A. Gonzearenco, A. K. Shaytan, B. A. Shoemaker, A. R. Panchenko // Biophysical Journal. — 2015. — Sept. — Vol. 109, no. 6. — P. 1295—1306. — DOI: 10.1016/j.bpj.2015.06.056. — IF WoS 3.665 - (1,4/0,4).
25. Shaytan, A. K. Nucleosome Adaptability Conferred by Sequence and Structural Variations in Histone H2A-H2B Dimers / A. K. Shaytan, D. Landsman, A. R. Panchenko // Current Opinion in Structural Biology. — 2015. — June. — Vol. 32. — P. 48—57. — DOI: 10.1016/j.sbi.2015.02.004. — IF WoS 6.908 - (1,2/1,0).

Основные публикации V

26. Comparative Computational Study of Interaction of C60-Fullerene and Tris-Malonyl-C60- Fullerene Isomers with Lipid Bilayer: Relation to Their Antioxidant Effect / M. E. Bozdaga-nyan, P. S. Orekhov, A. K. Shaytan, K. V. Shaitan // PLoS ONE / ed. by C. M. Soares. — 2014. — July 14. — Vol. 9, no. 7. — e102487. — DOI: 10.1371/journal. pone.0102487. — IF WoS 2.740 - (0,9/0,1).
27. Analysis of the Mechanism of Nucleosome Survival during Transcription / H.-W. Chang, O. I. Kulieva, A. K. Shaytan, M. Kibarov, K. Kuznedelov, K. V. Severinov, M. P. Kirpichnikov, D. J. Clark, V. M. Studitsky // Nucleic Acids Research. — 2014. — Feb. — Vol. 42, no. 3. — P. 1619—1627. — DOI: 10 . 1093 / nar / gkt1120. — IF WoS 11.501 - (1,0/0,2).
28. Voltage-Gated Ion Channel Modulation by Lipids: Insights from Molecular Dynamics Simulations / M. A. Kasimova, M. Tarek, A. K. Shaytan, K. V. Shaitan, L. Delemotte // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. — 2014. — May. — Vol. 1838, no. 5. — P. 1322—1331. — DOI: 10.1016/j.bbamem.2014.01.024. — IF WoS 3.4 - (1,2/0,1).
29. Nishi, H. Physicochemical Mechanisms of Protein Regulation by Phosphorylation / H. Nishi, A. Shaytan, A. R. Panchenko // Frontiers in Genetics. — 2014. — Aug. 7. — Vol. 5. — DOI: 10.3389/fgene.2014. 00270. — IF WoS 3.789 - (1,2/0,4).
30. Genome Packaging in EL and Lin68, Two Giant phiKZ-like Bacteriophages of *P. Aeruginosa* / O. Sokolova, O. Shaburova, E. Pechnikova, A. Shaytan, S. Krylov, N. Kiselev, V. Krylov // Virology. — 2014. — Nov. — Vol. 468—470. — P. 472—478. — DOI: 10.1016/j.virol.2014.09. 002. — IF WoS 2.464 - (0,8/0,1).
31. Peptide Nanofibrils Boost Retroviral Gene Transfer and Provide a Rapid Means for Concentrating Viruses / M. Yolamanova, C. Meier, A. K. Shaytan, V. Vas, C. W. Bertoni, F. Arnold, O. Zirafi, [et al.] // Nature Nanotechnology. — 2013. — Feb. — Vol. 8, no. 2. — P. 130—136. — DOI: 10.1038/nnano.2012.248. — IF WoS 31.538 - (0,8/0,2).
32. Influence of Interionic Interactions on Functional State and Blocker Binding of Voltage-Gated Potassium Channels / K. V. Shaitan, O. S. Sokolova, A. K. Shaitan, M. A. Kasimova, V. N. Novoseletskii, M. P. Kirpichnikov // Moscow University Biological Sciences Bulletin. — 2013. — Mar. — Vol. 68, no. 1. — P. 8—14. — DOI: 10.3103/S009639251301- 0057. — IF RINC 0.76 - (0,8/0,1).

Основные публикации VI

33. Orekhov, P. S. Calculation of Spectral Shifts of the Mutants of Bacteriorhodopsin by QM/MM Methods / P. S. Orekhov, A. K. Shaytan, K. V. Shaitan // Biophysics. — 2012. — Mar. — Vol. 57, no. 2. — P. 144—152. — DOI: 10.1134/S0006350912020170. — IF SJR 0.226 - (1,0/0,2).
34. Self-Assembling Nanofibers from Thiophene–Peptide Diblock Oligomers: A Combined Experimental and Computer Simulations Study / A. K. Shaytan, E.-K. Schillinger, P. G. Khalatur, E. Mena-Osteritz, J. Hentschel, H. G. Borner, P. Bauerle, A. R. Khokhlov // ACS Nano. — 2011. — Sept. 27. — Vol. 5, no. 9. — P. 6894—6909. — DOI: 10.1021/nn2011943. — IF WoS 13.7 - (1,8/1,0).
35. Self-Organizing Bioinspired Oligothiophene–Oligopeptide Hybrids / A. K. Shaytan, E.-K. Schillinger, E. Mena-Osteritz, S. Schmid, P. G. Khalatur, P. Bauerle, A. R. Khokhlov // Beilstein Journal of Nanotechnology. — 2011. — Sept. 5. — Vol. 2. — P. 525—544. — DOI: 10.3762/bjnano.2.57. — IF WoS 2.44 - (2,3/2,0).

Зарегистрированные патенты и программы

1. Заявка 2580006 Рос. федерация, МПК G 06 F 19/100. Способ скрининга потенциальных противоопухолевых препаратов ингибиторов FACT [Текст] / В. М. Студитский, О. И. Студитская, А. К. Шайтан (Российская Федерация). — № 2013132806/10 ; заявл. 16.07.2013 ; опубл. 27.01.2015, Бюл. № 3 ; приоритет 16.07.2013 (Рос. Федерация). — 10 с.
2. Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ. Программный комплекс реконструкции пространственной структуры белков и комплексов на основе карт электронной плотности низкого разрешения [Текст] / Д. Л. Шуров, А. К. Шайтан, Г. А. Армееев, Д. А. Турченков, В. Н. Блинов, М. П. Кирпичников, К. В. Шайтан. — № 2013614397 ; заявл. 13.05.2013 ; опубл. 17.07.2013, 2013614397 (Рос. Федерация).

Спасибо за внимание!

Ответы на замечания офиц. оппонента С.В. Разина I

- ❶ автор позиционирует свою работу как прежде всего методическую (о чем свидетельствует, в частности, формулировка целей работы). Мне кажется, что фундаментальное значение сделанных наблюдений является не менее важным, чем методические разработки.
- ❷ Выводы работы могли бы быть сформулированы более коротко
- ❸ В диссертации встречаются некоторые неудачные фразы, ошибочные утверждения и невычитанные опечатки
- ❹ на странице 14 автор пишет: “Достоверность полученных результатов обеспечивается их публикацией в рецензируемых журналах международного уровня с высокими импакт-факторами”. С точки зрения рецензента, достоверность результатов обеспечивается правильной стратегией постановки экспериментов и наличием необходимых контролей. Публикация же результатов в престижных журналах может только подтвердить, но никак не обеспечить их достоверность.

Ответы на замечания офиц. оппонента С.В. Разина II

- ⑤ На стр. 82 автор пишет о методе Hi-C, ссылаясь на публикацию Либермана-Аидена 2009 г: «Оригинальный протокол метода, описанный в статье 2009 года [148], позволял достичь разрешения 4 kb и выявлял, соответственно, в трехмерной структуре генома компартменты А и В....». В действительности, в цитированной работе разрешение составляло 100 kb.
- ⑥ На странице 237 автор пишет: “Эпигенетическими метками активных энхансеров являются, в частности, H3K27ac, H3K4me1, H3K27me3, и гистоновые варианты H3.3 и H2A.Z”. Рецензенту трудно согласиться с тем, что модификация H3K27me3 является маркером активных энхансеров. В стволовых клетках присутствуют бивалентные домены, где на энхансерах есть как H3K27ac, так и H3K27me3. Однако активация энхансера сопряжена с удалением H3K27me3, которая привлекает репрессорный комплекс Polycomb 1.

Ответы на замечания офиц. оппонента Р.Г. Ефремова I

- ❶ Материал, изложенный в Главе 2, представляет из себя набор модулей, каждый из которых соответствует опубликованным автором одной или нескольким работам по конкретной тематике. Считаю такой формат не слишком удачным с точки зрения целостного восприятия материала, поскольку неизбежно возникают повторы, например, при описании природы и устройства нуклеосом, их роли и пр., изложении методических подходов и пр.
- ❷ Недостатком работы, посвященной моделированию нуклеосом (Глава 2), является излишне краткое, подчас неинформативное описание вычислительных процедур и ряда полученных результатов. Кроме того, мало внимания уделяется обсуждению погрешностей моделирования и возможной чувствительности результатов молекулярной динамики (МД) к выбору исходных конфигураций рассматриваемых сложнейших объектов. В частности, расчеты МД проведены для ряда систем, содержащих изменения в исходной кристаллографической модели нуклеосомы, но при этом автор не поясняет, как подобные модификации структуры влияют на результаты МД. Тем более, что представленные здесь же данные показывают, что итоговые выводы могут измениться при выборе другого варианта «вмешательства» в модель нуклеосомы. Наконец, при обсуждении некоторых

Ответы на замечания офиц. оппонента Р.Г. Ефремова II

результатов вместо их исчерпывающего описания даны ссылки на опубликованные статьи автора и на интернет-ресурсы, что затрудняет анализ диссертационной работы

- ③ Как справедливо отмечает автор (и в этом – суть ИМ-подхода!), без привлечения в качестве ограничений экспериментальных данных компьютерное моделирование таких сложных систем как нуклеосомы не позволяет пока достичь надежных результатов. В связи с этим особое внимание следовало бы уделить именно вопросу уточнения конкретных результатов расчетов в зависимости от данных экспериментов. На мой взгляд, было бы полезно показать в сравнении, что дает стандартный расчет, а что – ИМ-подход
- ④ Как и в Главе 2, материал Главы 3 изложен в большой степени независимыми блоками, соответствующими публикациям по конкретной тематике. В результате имеются повторы в тексте, что затрудняет чтение

Ответы на замечания офиц. оппонента Р.Г. Ефремова III

- ⑤ При описании работы оператора с программой HYDROID часто упоминаются моменты, критическим (!) образом способные повлиять на результат. Кроме того, встречаются операции, которые необходимо проводить в «ручном» режиме. В какой степени это влияет на результаты профилирования и насколько программное обеспечение может быть использовано сторонними специалистами? Это важно с точки зрения как точности расчета, так и масштабирования программы и ее внедрения в практику исследований коллег, работающих в предметной области.
- ⑥ При построении стартовых моделей амилоидоподобных фибрилл автор использует большое число произвольно (практически «на глаз») выбранных преобразований бета-структурных тяжей. Критериями в данном случае служит число водородных связей, отсутствие стерических наталкиваний в системе, «плотность упаковки» тиофеновых фрагментов и т.д. Насколько адекватны подобные конфигурации? Времена полноатомного моделирования МД составляют всего 10 нс, что, конечно, недостаточно для уравновешивания системы. Были ли предприняты попытки моделирования МД с независимых стартов? В какой степени результаты чувствительны к выбору исходной конфигурации? Пробовали ли делать выбор оптимальных состояний, основываясь на оценках свободной энергии системы?

Ответы на замечания офиц. оппонента Р.Г. Ефремова IV

- 7 При анализе паттернов водородных связей в фибриллах (Глава 5) речь идет лишь о взаимодействиях белок-белок, а водородные связи с растворителем и в целом параметры гидратации фибрилл не обсуждаются. Вместе с тем, эти эффекты могут иметь важное значение для сборки и стабильности пептидных агрегатов
- 8 При обсуждении результатов моделирования (в частности, из пептидов EF-C) в качестве экспериментальных данных сравнения приводится лишь фотография профиля фибриллы, полученная методом атомно-силовой микроскопии (Рис. 5.37в). При этом автор утверждает, что «рассчитанная 2D картина дифракции фибрилл» согласуется с экспериментальными данными. Однако деталей такого согласия не приводится, при этом паттерны на Рис. 5.37в и 5.38г довольно сильно отличаются друг от друга.
- 9 В Главе 3 дано, на мой взгляд, излишне подробное описание программы HYDROID – местами оно, по сути, представляет собой руководство пользователя. Целесообразно было бы эти сведения дать либо в виде приложения, либо просто сослаться на соответствующий интернет-ресурс (ссылки на него и так есть)
- 10 Значения ряда физических величин приведены в разных единицах, например, нм и Å.

Ответы на замечания офиц. оппонента Р.Г. Ефремова V

- ➊ В Главе 5 встречаются фрагменты текста, по-видимому, переведенные с английского языка с помощью машинных средств. В частности, об этом свидетельствуют выражения: «производственный МД прогон» (стр. 343, возможно, «калька» с *productive MD run?*), «тетрамер был помещен в коробку для моделирования» (стр. 382) и др.
- ➋ Подписи к некоторым рисункам (например, 2.13, 2.17, 2.21) недостаточно информативны, в них не расшифровываются все детали, необходимые для понимания изображенного.
- ➌ К недостаткам работы относятся и некоторые погрешности оформления. Так, автор использует ряд неудачных, жаргонных и некорректных выражений, например: «межмолекулярная укладка пептидов» (стр. 14), «рентгеновская структура», «способность нуклеосом претерпевать определенные типы конформационных переходов разумно используется ... белками» (стр. 90), «полностью завернутое состояние» (стр. 99), «сложное динамическое взаимодействие между посттрансляционными модификациями гистонов» (стр. 128), «кристаллографические ионы» (стр. 129), «продвинутые навыки в языке Python» (стр. 190), «взаимодействие между внутренней геометрией... и геометрией, наложенной на ДНК...» (стр. 215) и пр. На стр. 341 вместо термина «постоянная длина» автор, по-видимому, имеет в виду персистентную длину.

Ответы на замечания оф. оппонента Н.В. Бриллиантова I

- ❶ На стр. 114 автор не приводит оценки радиуса гирации. Так как эти оценки представляются нетривиальными в рассматриваемом случае, было бы крайне интересно увидеть эти оценки.
- ❷ На стр. 115 приводится утверждение "длинные олигокатионы имеют тенденцию почти полностью ассоциироваться с высокозаряженной ДНК из-за увеличения свободной энергии при освобождении небольших одновалентных ионов". Указанное утверждение весьма не полно. По-видимому, автор неявно предполагает, что система имеет достаточно большой объем, чтобы энтропийный вклад освободившихся ионов доминировал.
- ❸ Автор изучил поведение системы при (чрезвычайно) высоком содержании соли, равном 1M и не обнаружил разборки нуклеосом (стр. 114) в работе это объясняется недостаточным временем моделирования. Не може ли это быть следствием того, что эффективная экранировка электростатических взаимодействий подавлялась за счет образования ионных пар? Возможно, следовало бы проверить, наличие и концентрацию ионных пар и ее соответствие экспериментальным зачечениям при такой концентрации соли. – Ответ: использовались параметры статьи Y. Lou and B. Roux "Simulation of Osmotic Pressure in Concentrated Aqueous Salt Solutions" J. Phys. Chem. Lett. - параметризация воспроизводит осмотическое давление до концентрации 4-5 M

Ответы на замечания оф. оппонента Н.В. Бриллиантова II

- ④ Удивление вызывает то, что автор не цитирует ряд основополагающих работ по теории образования амилодных фибрилл, такие как работы Прузинера (Prusiner, S.B. 1991. Molecular biology of prion diseases. Science 252:1515, Prusiner, S.B. 1999 An introduction to prion biology and diseases. CSHL), Айгена (Eigen, M. 1996 Prionics or the kinetic basis of prion diseases. Biophys Chem 63:A1) или Джеки (Jeffrey, M., I.A. Goodbrand and C.B. Goodsir 1995 Pathology of the transmissible spongiform encephalopathies with special emphasis on ultrastructure. Micron 26:277). Полагаю, что среди 677 ссылок должно было найтись место и для этих работ.
- ⑤ В общепринятой модели Мазеля-Новака (Masel, J., V. A.A. Jansen and M.A. Novak 1999 Quantifying the kinetic parameters of prion replication Biophys. Chem 77:139) утверждается, что фибриллы содержащие меньше, чем n мономеров (n около 6) - неустойчивы и сразу распадаются. Было бы интересно проверить это утверждение, используя методы диссертационной работы.

Ответы на замечания оф. оппонента Н.В. Бриллиантова III

- ⑥ В главе 2 автор обсуждает влияние электростатического отталкивания на углы входа выхода ДНК из нуклеосомы, изученное им с помощью моделирования нулеосом в растворах с различной ионной силой. Данный эффект можно было бы охарактеризовать не только качественно, но и количественно, например, проанализировав зависимость средней конформации линкерной ДНК при различной ионной силе.
- ⑦ В главе 3 автором разработан оригинальный метод определения положения ДНК на нуклеосоме с точностью до одного нуклеотида путем анализа данных о расщеплении ДНК гидроксильными радикалами. Не совсем понятно, как этот метод будет работать, если в растворе будет присутствовать смесь нуклеосом, взаимодействующих с матрицей ДНК в нескольких различных положениях.
- ⑧ В главе 5 предложенный автором алгоритм реконструкции крупномасштабной морфологии амилоидоподобных фибрилл основан на ручном или полуавтоматическом конструировании первоначальных периодических укладок пептидов. На мой взгляд, не до конца исследованным остается вопрос о зависимости общей формы фибриллы от тонких деталей первоначальной периодической укладки пептидов, например, ориентаций боковых цепей аминокислот.

Ответы на замечания оф. оппонента Н.В. Бриллиантова IV

- 9 Работа не лишена ряда опечаток и неудачных словесных оборотов.
- 10 Автор безусловно злоупотребляет англицизмами.
- 11 в секции 2.3.3 автор многократно использует термин "приворот". Согласно справке из словаря Даля, "приворот - способ привлечения внимания, любви колдовством ...". Из контекста понятно, что имеется в виду, и речь не идет о колдовстве, однако, автору следует быть внимательнее.

Благодарности

Автор выражает благодарность оппонентам, своим научным руководителям и консультантам, под руководством которых автору посчастливилось работать, М.П.Кирпичникову, А.Р.Хохлову, А.Р. Панченко, Д. Ландсману, П.Г. Халатуру, В.А. Иванову, всем соавторам своих научных работ и коллегам за плодотворное сотрудничество, в особенности, Г.А. Армееву, В.Б. Журкину, В.М. Студитскому, Х.-В. Чанг, Д.А. Гайкаловой, К.Ву, Х. Жао, А. Гончаренко, И. Драйзену, Е.-К. Шиллингер, О.С. Соколовой, А.В. Феофанову, Н.В. Малюченко, Е. Бондаренко, М. Валиевой, А. Любителеву и многим другим, коллективам кафедры физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ, кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ, Национального Центра Биотехнологической Информации Национальных Институтов Здоровья за продуктивную рабочую атмосферу и обсуждение работы.

Автор выражает благодарность своей семье за поддержку, без которой написание этой работы не было бы возможным, и А.Д. Шайтану за помощь с версткой текста.