

ՊԱՇՏՈՆԱԿԱՆ ԸՆԴԻՄԱԽՈՍԻ ԿԱՐԾԻՔ

Գ.00.03 «Մոլեկուլային և բջջային կենսաբանություն» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման համար ներկայացված Հարություն Կարապետի Սահակյանի «Տուբուլինի հետ կոլխիցինի և դրա անալոգների փոխազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմները» թեմայով ատենախոսության վերաբերյալ:

Բջջային կմախքի մաս կազմող միկրոխոդովակները բազմաֆունկցիոնալ կառույցներ են, և կառուցվածքային կարևոր դեր են խաղում բջջային մի շարք պրոցեսներում, այնպիսին ինչպիսիք են վեզիկուլների և ազդանշանային մոլեկուլների տրանսպորտը, բջջի ձևի փոփոխությունը, դրանց բաժանումը և այլն:

2.4. Սահակյանի թեկնածուական աշխատանքը նվիրված է հենց նմանատիպ բարդ համակարգերի ուսումնասիրությանը: Աշխատանքում փորձ է արվել համակարգչային մոդելավորման եղանակով, ուսումնասիրել միկրոխոդովակների հիմնական բաղադրիչ տուբուլինի և բուսական ծագում ունեցող հետերոցիկլային ալկալոիդների միջև փոխազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմները: Որպես հետերոցիկլային միացություններ դիտարկվել են կոլխիցինը և նրա մի շարք անալոգային միացությունները: Նշենք, որ կոլխիցինը, որը հայտնի դեղամիջոց էր դեռևս անտիկ Եգիպտոսում, ինտենսիվորեն օգտագործվում է մի շարք հիվանդությունների (օրինակ, պարբերական կամ երևանյան հիվանդությունը) բուժման և պրոֆիլակտիկայի համար, իսկ վերջերս նաև, ապացուցվել է դրա էֆֆեկտիվությունը թագավարակի (COVID-19) պարագայում (տես DOI: 10.1101/2021.01.26.21250494 գիտական հոդվածը):

2.4. Սահակյանի ատենախոսությունը բաղկացած է ներածությունից, մեթոդները նկարագրող մասից, հիմնական մասից, և 199 անուն գրականության ցանկից (104 էջ, 26

հետազոտության նպատակները, ինչպես նաև տրված է դրանց կիրառական նշանակությունը: Նշված ակնարկային գլխում մանրամասն տեղեկացվում է նաև մոլեկուլային դինամիկայի մեթոդի, դոքինգի և վիրտուալ սքրինինգի մասին:

Ատենախոսության երկրորդ գլուխը նվիրված է ուսումնասիրության գործիք հանդիսացող մեթոդներին՝ մոլեկուլային դինամիկայի (ՄԴ) մեթոդ, սկրինինգ և մոլեկուլային դոքինգ:

Երրորդ գլխում շարադրված են ատենախոսության հիմնական արդյունքները, իսկ գլուխը բաղկացած է 4 պարագրաֆից: Առաջին պարագրաֆը նվիրված է տուբուլին-կոլխիցին (ինչպես նաև նրա անալոգների) փոխազդեցության առանձնահատկություններին: Տուբուլին-ալկալոիդ կապման կայքերի (կամ մասերի) ուսումնասիրությունը կատարվել է մոլեկուլային դինամիկայի մեթոդով: Նշենք, որ այս դեպքում համակարգչային մոդելավորումը կատարվել է օգտագործելով AMBER18 ծրագրային փաթեթը, որտեղ սպիտակուցային միավորները նկարագրելու համար օգտագործվել է ff14SB տարբերակը, իսկ GAFF-ը՝ ցածրամոլեկուլային միավորները նկարագրելու համար: Կապման ազատ էներգիայի հաշվման համար օգտագործվել է MM-PBSA կողը (ազատ շրջանառության կող՝ գրված պիթոն ծրագրավորման լեզվով, որը մոլեկուլային դինամիկայի արդյունքում ստացված տվյալներից ստանում է կապման ազատ էներգիան – DOI: 40.5281/zenodo.4569307): Ստացվել է, որ տուբուլինի հետ ավելի ուժեղ կապ գրանցվում է նոկոդազոլի պարագայում (-58.2կկալ/մոլ), իսկ ամենամեծ էներգիայով (-46.5կկալ/մոլ) տուբուլինը փոխազդում է հենց կոլխիցինի հետ: Չնայած նրան, որ աշխատանքում առկա չեն ուղիղ փորձարարական տվյալներ համեմատելու համար, պետք է նշել, որ ստացված տվյալները լավ համընկնում են գրականության մեջ առկա փորձարարական արդյունքների հետ: Որպես համեմատություն նշվում է Majcher et al., 2018-ի (DOI:10.3390/cells7110216) աշխատանքը, որի պայմանները թերևս մի քիչ տարբերվում են նշված փորձերից: Հաջորդիվ, ուսումնասիրվել են ալկալոիդ – ամինաթթվային միավորներ կոնտակտները: Ցույց է տրվել, որ ամենաշատ ամինաթթվային կոնտակտներ ստեղծվում է կոլխիցինի անալոգ – նոկոդազոլի դեպքում, որն ի դեպ, ի տարբերություն մյուսների, համարվում է սինթետիկ միացություն:

Հիմնական գլխի երկրորդ պարագրաֆը նվիրված է կոլխիցինի և նրա անալոգների ազդեցությանը տուբուլինի α և β միավորների վրա: Հաշվարկվել է

կապման էներգիան տարբեր դեպքերի համար, որտեղ որպես էտալոնային արժեք վերցվել է ազատ տուբուլինի (PDB-ID:4i4t) արժեքը (-93.2 ± 2.7 կկալ/մոլ): MM/GBSA փորձերը ցույց են տվել, որ կոլխիցինի դեպքում, կապման էներգիան կազմում է -65.3 ± 1.6 կկալ/մոլ: Նմանատիպ եղանակով ուսումնասիրվել են նաև ամինաթթվային միավորները: Պարզվել են ազատ տուբուլինի դեպքում կարևոր նշանակություն ունեցող ամինաթթվային միավորները, որից հետո դրանք համեմատվել են կոլխիցինի ազդեցության ժամանակ ակտիվ ամինաթթվային միավորների հետ: Կոնֆորմացիոն առումով, ամենամասշտաբային փոփոխություններ կրում են GLN-247 և ASN-249 միավորները: Հարկ է նշել, որ կոլխիցինի անալոգների ազդեցության ժամանակ ևս տեղի է ունենում կապման էներգիայի նվազում: Նշենք նաև, որ ցածրամոլեկուլային միացությունների ազդեցությունը բերում է տուբուլինի էլեկտրաստատիկ մակերեսի փոփոխության, որը ըստ հեղինակի կապված է GLN-247 և ASN-249 ամինաթթվային միավորների հետ:

Հիմնական գլխի երրորդ ենթազույգը նվիրված է տուբուլինի ամինաթթվային միավորների փոփոխության ազդեցությանը կոլխիցինի կապման պարագայում: Որպես մուտացիոն միավորներ վերցվել են համապատասխանաբար, 239 (Ser - Tyr), 248 (Ala-Thr), 253 (Leu -Val), 257 (Met-Val), 257 (Met- Thr), 314 (Ala-Val) և 316 (Ile-Val) համարները: Այնուհետև, ստացված համակարգերը մոդելավորվել են՝ այս դեպքում արդեն GROMACS ծրագրային փաթեթի օգնությամբ, օգտագործելով ուժային դաշտի amber14sb-ildn տարբերակը: Դասական ՄԴ փորձերը ցույց են տվել, որ համակարգը բավականին կայուն է, որի ապացույցն են ներկայացված կորերը (միջին քառակուսային շեղման և իներցիայի շառավղի): Սակայն ի տարբերություն վերջինիս, կապման էներգիայի դեպքում ստացվել են նկատելի տարբերություններ: Բավականին մեծ շեղում նկատվում է 248 (Ala-Thr) և 257 (Met-Val) մուտացիաների դեպքում: Ի դեպ, ըստ հեղինակի կապման էներգիայի նման մեծ շեղումները պայմանավորված են նրանով, որ ոչ բևեռային, չեզոք ալանինը փոխվում է բևեռային, չլիցքավորված տրեոնինով, ասել է թե փոփոխվում է հիդրոֆորության աստիճանը, ինչը, ինչպես հայտնի է կարևոր դեր է խաղում կոլխիցինի կապման պարագայում:

Հիմնական գլխի վերջին, չորրորդ ենթաբաժինը նվիրված է վերոհիշյալ համակարգերի դոքինգին և վիրտուալ սքրինգին: Ողջունելի է, որ հեղինակի կողմից գրվել է bash հիմունքով կոդ, որը AmberTools18 հիման վրա, օգտագործելով MM/PBSA

և MM/GBSA մեթոդները, հաշվվում է կապման էներգիան: Ի դեպ, կողք որը հասանելի է <https://github.com/sahakyanhk/iPBSA> հասցեով, աշխատում է Unix/Linux օպերացիոն համակարգի ներքո, և կարող է գործարկվել ինչպես դասական (CPU), այնպես էլ նորագույն գրաֆիկական (GPU) պրոցեսորների վրա: Այդյունքները ցույց են տվել, որ ներկայացված ալգորիթմը ավելի հստակ է տարանջատում իրական դրական կամ կեղծ դրական արդյունքները:

2.4. Մահակյանի ատենախոսությունը անշուշտ թողնում է բավականին լավ տպավորություն, սակայն կարելի է նշել որոշ թերևս տեխնիկական թերություններ կամ դիտողություններ:

- Սովորաբար նմանատիպ աշխատանքներում հեղինակը պարտավոր է ատենախոսության վերջում հավելվածի տեսքով տալ մոդելավորման փորձում օգտագործված կոնֆիգուրացիոն – պարամետրական ֆայլերը, կամ ներկայացնել այն ատենախոսության կից՝ որևէ կրիչով: Դա հնարավորություն կտա, նախ և առաջ, անհրաժեշտության դեպքում, ստուգել տվյալները, կամ ասենք օգտագործել, մոդելավորման արդյունքում ստացված կոորդինատային կամ պարամետրական ֆայլերը: Ի դեպ, հասկանալի է, որ որպես հաշվարկային ռեսուրս այս խնդիրներում, ընտրվել է բարձր արտադրողականության հաշվողական կլաստերներ կամ աշխատանքային կայաններ, և ցանկալի կլիներ տեսնել նաև հաշվարկային-մեքենայական ռեսուրսի արագագործությունը կախված ուսումնասիրվող համակարգի առանձնահատկությունից:
- Հարց է առաջանում նաև կապված ուժային դաշտերի հետ: Ինչու սպիտակուցների նկարագրման համար չի օգտագործվել 2019թվ. մշակված ff19SB կատարելագործված տարբերակը՝ փոխարենը օգտագործելով մի քանի տարվա վաղեմություն ունեցող ff14SB տարբերակը: Եթե չեմ սխալվում ուժային դաշտի թարմացումները առաջինը վերաբերվում են հենց ամինաթթվային միավորներին:

Չնայած նշված տեխնիկական մասով որոշ դիտողություններին՝ Հ.Կ. Սահակյանի կողմից կատարված աշխատանքը բավականին հետաքրքիր է և արդիական: Նշեմ, որ ատենախոսության նպատակը և խնդիրները ձևակերպված են հստակ, գիտական նորույթը ընդգծում է ատենախոսության արդիականությունը: Ատենախոսության թեմայով տպագրվել է ընդհանուր առմամբ 5 աշխատանք: Ատենախոսության շրջանակներում արված եզրակացություններն անմիջականորեն բխում են հետազոտության արդյունքներից:

Հ.Կ. Սահակյանի ատենախոսությունը հիմնավոր և ավարտուն գիտագործնական ուսումնասիրություն է և բավարարում է ՀՀ ԲՈՀ-ի թեկնածուական ատենախոսություններին ներկայացվող պահանջներին, իսկ հեղինակն արժանի է կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի շնորհման Գ.00.03 «Մոլեկուլային և բջջային կենսաբանություն» մասնագիտությամբ: Սեղմագիրն ընգրկում է ատենախոսությունում կատարված ուսումնասիրությունները և համապատասխանում է նրան:

ՀՀ ԳԱԱ ԳԿՄԿ Կենսահինֆորմատիկայի

լաբորատորիայի ղեկավար, ֆիզ.գիտ.դոկտոր



Ա. Հ. Պողոսյան

Ֆիզ.գիտ.դոկտոր Ա.Հ. Պողոսյանի ստորագրությունը հաստատում եմ

Գիտական քարտուղար



Մ. Սարգսյան

14 հուլիս 2021 թ.