

## ОТЗЫВ

на диссертационную работу Саакяна Арутюна Карапетовича «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КОЛХИЦИНА И ЕГО АНАЛОГОВ С ТУБУЛИНОМ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.03 - «Молекулярная и клеточная биология»

Микротрубочки являются ключевым звеном в ряде внутриклеточных процессов. Показано, что полимеризация и разрушение микротрубочек носит динамический характер и кроме температуры и концентрации ГТФ, зависит также от белков и низкомолекулярных соединений, выступающих в роли ингибиторов или активаторов. Следует отметить, что основой микротрубочек является тубулин, который образует протофиламенты, далее собирающиеся в микротрубочки. Ранее показано, что связываясь с тубулином колхицин ингибирует его полимеризацию. Исследование и описание молекулярных механизмов воздействия колхицина и его аналогов на полимеризацию тубулина позволит разработать оптимальные подходы новых ингибиторов роста микротрубочек.

Взаимодействие с различными лигандами субъединиц тубулина и наличие колхицина и аналогов, находящихся на периферии двух субъединиц, затрудняет использование молекулярного докинга с целью определения констант связывания. Подходы молекулярной динамики, применяемые для оценки межатомных взаимодействий, требуют наличие мощных вычислительных ресурсов, что препятствует масштабному скринингу большого количества химических соединений. С этой точки зрения, актуальность исследований, направленных на разработку новых эффективных подходов скрининга широкого спектра с целью идентификации новых активных соединений для многокомпонентных систем, не вызывает сомнений.

Работа существенно отличается от ранее проведенных исследований в данной области, поскольку направлена на выявление молекулярных механизмов взаимодействия колхицина и его аналогов с гетеродимером тубулина для оптимизации методов поиска новых цитостатиков. Для решения поставленной цели проведено исследование особенностей влияния колхицина и его аналогов на энергию взаимодействия между субъединицами тубулина, анализ влияния ряда аминокислотных замен в структуре тубулина на энергию связывания колхицина, а также разработка алгоритма для повышения точности докинга и виртуального скрининга в сложных мультикомпонентных системах.

Автором описаны особенности влияния колхицина и его аналогов на свободную энергию связывания  $\alpha$  и  $\beta$  субъединиц тубулина, показано ингибирующее действие колхицина и его аналогов в контексте белок-белкового взаимодействия. Предполагается, что подобный механизм действия работает также и в случае других соединений, взаимодействующих с сайтом связывания колхицина. Важно отметить, что в результате исследования генетической variability гена тубулина Саакяном А.К. выявлены однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphism), приводящие к замене аминокислот именно в местах связывания тубулина. Функциональная оценка данных замен на уровне молекулярного моделирования показала воздействие на эффективность взаимодействия между колхицином и тубулином. Следует подчеркнуть, что методами молекулярной динамики и оценки свободной энергии Саакяну А.К. удалось выявить две мутации (A248T и M257V), снижающие энергию взаимодействия колхицина с гетеродимером тубулином вдвое. Возможно, наличие именно этих замен в гене тубулина и обуславливает резистентность к колхицину, наблюдаемую у значительного процента больных семейной средиземноморской лихорадкой (ССЛ).

Работа Саакяна А.К., несомненно, имеет как теоретическую, так и практическую значимость. С теоретической точки зрения, полученные данные обогащают современные представления относительно молекулярных механизмов взаимодействия колхицина и его аналогов с тубулином. Автором идентифицированы аминокислотные замены, влияющие на связывание колхицина с тубулином. С прикладной точки зрения, полученные результаты могут найти применение в разработке подходов оценки резистентности новых

эффективных методов ранней диагностики и лечения ССЛ. Автором разработан алгоритм, позволяющий с более высокой точностью по сравнению с имеющимися аналогами, определить энергию связывания и получить ее количественные и качественные значения. Основным достоинством алгоритма является возможность использования данной программы для более сложных, многокомпонентных комплексов.

Несмотря на выше названные достоинства, хотелось бы подчеркнуть два пункта на которые стоило бы обратить внимание:

1) Исследование однонуклеотидных полиморфизмов тубулина является весьма весомым шагом в понимании молекулярных механизмов резистентности колхицину. В связи с этим хотелось бы увидеть аналогичные исследования с полиморфизмами, которые характерны для других изоформ тубулина. Однозначно тубулин  $\beta 1$  является основным изоформом характерным для лейкоцитов, но присутствие других изоформ тоже может иметь важную роль в фармакодинамике колхицина.

2) Автор достаточно убедительно показывает, что колхицин действует как ингибитор белок-белкового взаимодействия и может дестабилизировать формирование микротрубочек. Однако, известно, что колхицин способен разрушать и сформировавшиеся микротрубочки, дают ли проведенные симуляции какое-либо представление о том каков механизм в этом случае.

В заключение, отмечу, что диссертационная работа Саакяна А.К. является законченным исследованием, обладающим несомненной новизной, результаты которого имеют как фундаментальную, так и прикладную значимость для современной биомедицины. Кропотливо проведенное исследование можно считать образцовым с точки зрения комплементарного использования передовых методологий для достижения более интегрированного взгляда на имеющиеся актуальные проблемы с целью разработки и совершенствования целостных подходов к биологическим исследованиям.

Считаю, что диссертационная работа «Молекулярные механизмы взаимодействия колхицина и его аналогов с тубулином», по своей актуальности, адекватности методических подходов, новизне, а также теоретической и практической значимости

соответствует требованиям ВАК РА, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Саакян А.К. заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.03 – «Молекулярная и клеточная биология».

Старший научный сотрудник

Института молекулярной биологии НАН РА, к.б.н.

Р.В. Захарян

Подпись Р.В. Захарян заверяю:

Ученый секретарь Института молекулярной  
биологии НАН РА, к.б.н.



Յ.Ա. Խաչատրյան

14.07.2021