

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Г.В. Чилингаряна "Взаимодействие некоторых низкомолекулярных соединений с теломерной G-квадруплексной ДНК", представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.02 – "Биофизика, биоинформатика".

В настоящее время проявляется повышенный научный интерес к теломерной G-квадруплексной ДНК. Исследования последних лет показали, что G-квадруплексы образуются в геномной ДНК человека во всех фазах клеточного цикла, влияя на регуляторные механизмы ключевых биологических процессов. Отметим некоторые важные свойства G-квадруплексов. Они могут ингибировать экспрессию онкогенов, контролировать уровень сверхспирализации в геноме, блокировать нежелательную элонгацию теломерных ДНК, служить мишенями противоопухолевых препаратов. Они могут также генерировать двухцепочечные разрывы, геномные перестановки, мутации и делеции, связанные с онкологическими заболеваниями и нейродегенеративными процессами. Теломерная G-квадруплексная ДНК имеет высокую терапевтическую ценность в качестве альтернативной молекулярной мишени в современной противоопухолевой терапии. Одновременно с этим открытием возникла актуальная задача поиска и дизайна низкомолекулярных лигандов селективно связывающихся и стабилизирующих теломерные G-квадруплексные структуры. Традиционные методы поиска лигандов и исследования G-квадруплексных структур оказались не эффективными. Возникают целый ряд проблем, например таких как ограниченность биофизических методов для исследования полиморфных биомолекул и как следствие получение с их помощью недостаточно точной информации о структурном полиморфизме G-квадруплексных структур. Затрудняется поиск и дизайн низкомолекулярных лигандов из-за того, что в физиологических условиях теломерная G-квадруплексная ДНК существует в виде большого ансамбля различных структурных топологий. Одним из наиболее эффективных и актуальных подходов является применение современных методов биоинформатики и вычислительной биологии, в частности методов молекулярной динамики и моделирования для исследовании динамики фолдинга биомолекул и их взаимодействия с низкомолекулярными лигандами.

Диссертационная работа Г.В. Чилингаряна «Взаимодействие некоторых низкомолекулярных соединений с теломерной G-квадруплексной ДНК» посвящена важной и актуальной теме исследованию характера взаимодействия низкомолекулярных соединений с теломерной G-

квадруплексной ДНК и поиску селективно связывающихся с ними лигандов. В диссертации методами биоинформатики и вычислительной биологии были выявлены особенности взаимодействия низкомолекулярных соединений связывающихся с теломерными G-квадруплексными структурами. Проведенные исследования позволили найти низкомолекулярные соединения потенциально связывающихся с рядом структурных форм теломерной G-квадруплексной ДНК, которые являются более селективными и менее генотоксичными, чем известные. Показано, что повышение селективности и понижение генотоксичности низкомолекулярных лигандов, связано с взаимодействием соединений с петельными участками теломерной G-квадруплексной ДНК.

Диссертация состоит из списка сокращений, введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы, насчитывающего 246 наименований. Диссертация изложена на 123 страницах, содержит 3 таблицы и 26 рисунков.

Диссертация начинается со списка использованных сокращений. Во введении обоснована актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, приведены научная новизна и научно-практическая значимость работы, а также основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1 посвящена обзору литературы по теме диссертации. Приводится краткий обзор работ об истории открытия и характеристик G-квадруплексных структур. Особое внимание уделено полиморфизму и функциональной роли G-квадруплексов. Подробно описаны характерные особенности теломерной области ДНК, где формируются G-квадруплексы. Приводятся данные, указывающие на значимость теломерной G-квадруплексной ДНК как антираковой молекулярной мишени. Приводится также литературный обзор об исследовании взаимодействия низкомолекулярных лигандов с G-квадруплексной ДНК. Описаны известные соединения, взаимодействующие с G-квадруплексными структурами и выделены основные группы исследованных соединений.

В главе 2 описаны использованные материалы и методы исследования. Отмечу, что диссертантом была разработана и оптимизирована методология, включающая ряд современных, а также оригинальных, разработанных диссертантом, биоинформационных методов. Важным этапом исследований явилось создание библиотеки химических соединений, общее количество соединений в библиотеке составило примерно 50 тыс. Затем после фильтрации библиотеки соединений были отобраны соединения для последующих детальных исследований. Проведена валидация молекулярной мишени. В качестве бимолекулярных мишеней, были отобраны три

структурные формы G-квадруплексов ("hybrid-1", "hybrid-2", "propeller"), отображающие структурный полиморфизм теломерной G-квадруплексной ДНК. Для проведения виртуального скрининга была разработана специальная методология, в которую были имплементированы различные методы по оптимизации и улучшению точности молекулярного докинга. Методом измерения электрофоретической подвижности В-формы ДНК в 1%-ом агарозном геле было исследовано прямое взаимодействия артемизинина с геномной ДНК опухолевых ткани Саркомы S-180. Симуляции молекулярной динамики были проведены с помощью программного пакета GROMACS v. 5.1. При этом использовались целый ряд продуманных дополнительных процедур и инструментов, которые позволили провести симуляцию в условиях близких к физиологическим, получить надежные результаты и визуализировать их.

Глава 3 посвящена результатам и их обсуждению. Исследовано взаимодействие кверцетина и дигидрокверцетина с теломерной G-квадруплексной ДНК. Проведенные симуляции молекулярной динамики показали, что кверцетин взаимодействует с бороздкой "hybrid-1" структурной топологией теломерной G-квадруплексной ДНК, а дигидрокверцетин связывается с петлей квадруплексной структуры. Показано также, что дигидрокверцетин обладает меньшей по сравнению с кверцетином генотоксичностью. Исследования показали, что артемизинин и димер дигидроартемизинина взаимодействуют с нуклеотидами петли структурной топологии "hybrid-2" теломерной G-квадруплексной ДНК. Низкомолекулярные лиганды, взаимодействующие с бороздками G-квадруплексных структур и канонической В-формы ДНК обладают низкой селективностью и высокой генотоксичностью. Получен важный результат, указывающий на то, что взаимодействие низкомолекулярных соединений с петельными участками, специфичными для теломерной G-квадруплексной ДНК, повышает их селективность по отношению к данным структурам и из-за предотвращения возможности интеркаляции, что снижает потенциальную генотоксичность. В результате проведенных в диссертации исследований была разработана эффективная методология для поиска и идентификации низкомолекулярных соединений взаимодействующих преимущественно с петельными участками теломерной G-квадруплексной ДНК, что увеличивает количество потенциальных противоопухолевых лекарственных препаратов. Полученные в диссертации результаты открывают новые возможности дизайна соединений с учетом структурного полиморфизма молекулярной мишени.

Диссертация хорошо оформлена и иллюстрирована графиками и таблицами. Мои замечания к диссертации следующие:



1. Диссертантом была разработана и оптимизирована методология виртуального скрининга. В чем заключается преимущество разработанной методологии в сравнении с аналогичными методами? Каким образом была проведена валидация данной методологии?

2. В диссертации приводятся значения энергии связывания лигандов с теломерной G-квадруплексной ДНК. Каким образом были проведены данные расчёты, какие энергитические показатели лежат в их основе?

К сожалению, в диссертации и автореферате имеются некоторые опечатки и неточности, которые, однако, не искажают общего весьма положительного впечатления от работы. В целом, диссертационная работа Г.В. Чилингаряна выполнена на высоком научном уровне и вносит определенный вклад в данную область науки.

Опубликованные автором работы по теме диссертации хорошо отражают содержание диссертации. Автореферат правильно и полностью отражает содержание диссертации.

Диссертационная работа Гарри Вачагановича Чилингаряна по теме “Взаимодействие некоторых низкомолекулярных соединений с теломерной G-квадруплексной ДНК” полностью соответствует требованиям ВАК РА, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Считаю, что автор работы заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.02 - “Биофизика, биоинформатика”.

Профессор кафедры молекулярной физики  
Ереванского Государственного Университета,  
доктор физико-математических наук



В.Б. Аракелян

Подпись профессора В.Б. Аракеяна заверяю:

Ученый секретарь  
Ереванского Государственного Университета,  
кандидат исторических наук



Л.С. Овсепян

25.11.2021