

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА
доктора фіз.-мат. наук, професора,
завідуючого відділом біологічної фізики
Інституту радіофізики та електроніки ім. О.Я. Усикова НАН України
Шестопалової Ганни Вікторівни
на дисертаційну роботу Бубон Тетяни Леонідівни
**«Моделювання коливальної динаміки іон-гідратної
оболонки подвійної спіралі ДНК»,**
представлену до захисту на здобуття ступеня доктора філософії
(напрямок 10 – природничі науки, спеціальність 104 – фізика та астрономія).

Актуальність теми дисертації. На теперішній час добре відомо, що всі процеси у живій клітині, які забезпечують її життєдіяльність, відбуваються у водно-іонному середовищі. Водночас, за підсумками численних експериментальних і теоретичних досліджень, доведено, що стабільність просторової структури подвійної спіралі ДНК та її динамічні перетворення забезпечуються безпосередньою участю іон-гідратного оточення макромолекули. Тому роль іон-гідратної оболонки ДНК в певній мірі є ключовою для розуміння фізичних механізмів функціонування самої макромолекули.

Проте наразі існують певні невирішені питання, пов'язані з аналізом взаємозалежної динамічної поведінки подвійної спіралі та її іон-гідратного оточення, зокрема, коливальної динаміки протийонів та молекул води у різних шарах гідратної оболонки, в тому числі поблизу місць їхнього контакту з атомними групами ДНК. Це може відігравати визначальну роль у молекулярно-біологічних процесах за участі таких систем.

Розробка нових, фізично обґрунтованих підходів до розв'язання цієї проблеми є одним із актуальних завдань молекулярної фізики та біофізики. Сучасні експериментальні методи дозволяють отримувати коливальні спектри, однак залишається складним завданням виокремлення та характеристика коливальних мод молекул води й протийонів, які формують іон-гідратну оболонку ДНК і безпосередньо взаємодіють із подвійною спіраллю. Такі моди фіксуються у низькочастотному діапазоні коливальних спектрів.

Саме вивченню коливальної поведінки молекул води у різних шарах гідратної оболонки подвійної спіралі ДНК з урахуванням іонів лужних металів, які можуть розглядатися як складова навколишнього водного середовища макромолекули, присвячені дослідження авторки, а їх результати стали основою дисертаційної роботи.

У дисертації наведено дані досліджень коливальної динаміки іон-гідратної оболонки ДНК із застосуванням теоретичної моделі і комп'ютерного моделювання та аналізу коливальної динаміки молекул води і протийонів лужних металів у складі іон-гідратної оболонки ДНК. За підсумком визначено вплив окремих протийонів на динаміку молекул води у гідратній оболонці подвійної спіралі та особливості їхньої гідратації, а також структурної організації молекул води біля різних компонентів подвійної спіралі – фосфатних груп цукрово-фосфатного остову і обох жолобків.

Структура дисертації. Дисертаційна робота подається до захисту вперше. Її загальний обсяг становить 171 сторінку тексту, вона містить вступ, чотири розділи, висновки, список цитованої літератури, чотири додатки, включає 25 рисунків та 11 таблиць.

У *вступі* обґрунтовано актуальність виконаних досліджень, пояснені мета та завдання роботи, новизна та практична значимість отриманих результатів і можливий розвиток подальших досліджень. Наведено зв'язок з науковими темами та планами. Також визначається особистий внесок здобувача і апробація результатів.

В *першому розділі* розглянуто наукові публікації за темою дисертації. Проведено аналіз результатів, отриманих іншими науковцями та дослідницькими колективами, щодо особливостей структури подвійної спіралі ДНК, ролі молекул води і протийонів у формуванні подвійної спіралі ДНК. Розглянуто наявні факти про структуру та динаміку іон-гідратної оболонки. Окрему увагу приділено гідратації іонів лужних металів. Детально розглянуто існуючі дані про особливості коливальної динаміки ДНК, які проявляються в експериментальних спектрах. Описано метод класичної молекулярної динаміки як основний метод комп'ютерного експерименту, що був обраний авторкою для вивчення динаміки іон-гідратної оболонки ДНК. За підсумками першого розділу визначено актуальні невирішені питання в обраному напрямку досліджень. На основі проведеного аналізу сформульовано основну мету дисертаційної роботи та шляхи її реалізації.

У *другому розділі* на основі підходу до конформаційної динаміки подвійної спіралі ДНК розвинуто теоретичну модель для дослідження коливальної динаміки молекул води, локалізованих в малому жолобку ДНК. Показано, що така модель дозволяє розраховувати частоти та амплітуди коливань молекул води та структурних елементів подвійної спіралі ДНК. Виявлено, що частота коливань води залежить від конформаційних коливань подвійної спіралі ДНК та моделюється послідовністю нуклеотидів.

Для виділення трансляційних мод коливань молекул води в малому жолобку ДНК серед інших мод, що спостерігаються в експериментальних низькочастотних спектрах, запропоновано два незалежні підходи. Перший передбачає аналіз коливальної динаміки ДНК з різним вмістом пар нуклеотидів. Інший метод виявлення мод коливань води у малому жолобку ДНК ґрунтується на наявності частотного зсуву в коливальних спектрах, отриманих при дослідженні ДНК в середовищі важкої води. Підсумовуючи результати, наведені в розділі, встановлено, що характеристики моди коливань молекул води в малому жолобку ДНК можуть розглядатися як засіб ідентифікації такої моди в низькочастотних спектрах, отриманих експериментально.

У *третьому розділі* наведено результати молекулярно-динамічного моделювання систем ДНК в водному середовищі та чистій воді. На основі аналізу молекулярно-динамічних траєкторій були обчислені спектри густини коливальних станів для молекул води, які локалізовано у різних зонах іон-гідратної оболонки ДНК (зовнішній шар, фосфатні групи, великий та малий жолобки), а також в чистому водному розчині. Такий підхід дав змогу ідентифікувати шість коливальних мод в низькочастотному діапазоні спектру та надати фізичну інтерпретацію виявлених мод коливань молекул води. Отримані дані свідчать, що коливальна динаміка молекул води гідратної оболонки ДНК суттєво відрізняється від динаміки молекул води у вільному об'ємі. Ця відмінність зумовлена взаємодіями молекул води з атомами ДНК, які обмежують рухливість молекул гідратної оболонки. Також встановлено, що мода розтягування водневих зв'язків між молекулами води відсутня в спектрах, розрахованих для зовнішнього шару ДНК, що пояснюється порушенням симетрії коливань, тоді як в спектрах вільної води вона зберігається.

У **четвертому розділі** надано результати молекулярно-динамічного моделювання систем ДНК з протийонами лужних металів для оцінки їхнього впливу на динаміку коливань іон-гідратної оболонки подвійної спіралі ДНК.

Запропоновано два незалежних методи обчислення коливальних спектрів, які ґрунтуються на кореляції дипольних моментів та кореляції швидкостей атомів систем. Аналіз інфрачервоних спектрів, розрахованих для окремих компонентів досліджених систем, показав, що вплив іонів на коливальну динаміку ДНК не є суттєвим. Виняток становить система з іоном літію, в якій протийони взаємодіють з остовом подвійної спіралі, що відображається у коливальних модах фосфатних груп.

Також виявлено залежність коливальної динаміки гідратної оболонки ДНК від локалізації протийонів (малий або великий жолобки, фосфатні групи), що проявляється у значній відмінності спектрів для іонів із різним типом гідратації – позитивної або негативної. Найбільш виражені розбіжності спостерігаються у негативно гідратованих іонів, які розташовані в малому жолобку ДНК. Аналіз спектрів густини коливальних станів молекул води у гідратаційній оболонці іонів виявив наявність ізобестичної точки, виникнення якої пояснюється стеричними обмеженнями при взаємодії молекул води з атомними групами ДНК та протийонами, які можуть як впорядковувати так і порушувати структуру молекул води гідратної оболонки подвійної спіралі.

Наприкінці кожного розділу дисертації наведено проміжні висновки. В основних висновках узагальнено та сформульовано результати роботи в цілому.

Найбільш вагомі результати дисертації. Рецензування за змістом дисертації дає підстави стверджувати, що в дослідженні сформульовано нові концепції щодо динамічних характеристик іон-гідратної оболонки ДНК, які значно розширюють розуміння фізичних механізмів взаємодії молекул води та іонів лужних металів із подвійною спіраллю ДНК.

Серед найважливіших досягнень дисертаційної роботи варто відзначити створену авторкою нову фізичну модель для визначення коливальної динаміки молекул води, які розташовані в малому жолобку ДНК. Завдяки цій моделі можна аналітично визначати частоти коливань молекул води у малому жолобку подвійної спіралі ДНК та її структурних компонентів.

На основі цієї моделі з'ясовано, що коливальна динаміка молекул води в малому жолобку залежить від послідовності нуклеотидів ДНК. Для виявлення коливальних мод молекул води в малому жолобку в низькочастотних спектрах, отриманих експериментально, запропоновано два підходи: аналіз коливальної поведінки ДНК із різним складом пар нуклеотидів та дослідження коливальної динаміки системи ДНК в середовищі важкої води. Визначені за допомогою запропонованої моделі моди коливань молекул води в малому жолобку ДНК можуть бути використані для ідентифікації таких мод в експериментальних низькочастотних спектрах.

За результатами молекулярно-динамічного моделювання вперше розраховано інфрачервоні спектри ДНК, солей іонів лужних металів та молекул води, з'ясовано особливості коливальної динаміки молекул води в гідратній оболонці ДНК, а також вплив різних протийонів на коливальну динаміку атомних груп ДНК. Відповідно до розрахованих спектрів густини коливальних станів іонів лужних металів вперше виявлено залежність коливальних спектрів іонів від типу гідратації іонів та місця їхнього розташування відносно подвійної спіралі.

Достовірність та апробація результатів. Представлена до захисту робота виконана на високому науковому рівні. Достовірність і обґрунтованість результатів забезпечується використанням відомих фізичних моделей та методів комп'ютерного моделювання.

Співставлення теоретичних обчислень і підсумків комп'ютерного моделювання з експериментальними даними надає додаткове підтвердження достовірності результатів.

Основний зміст дисертації викладено в трьох статтях, опублікованих у провідних реферованих наукових журналах, що входять до наукометричної бази SCOPUS. Наукові результати та їх апробація на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях повністю відповідають умовам п.8 «Порядку присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою № 44 Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р.

Зауваження та запитання. Дисертаційна робота Бубон Т.Л. є завершеним науковим дослідженням, в якому наведено достатні за обсягом та науковою цінністю результати, виконано їх всебічний аналіз. В той же час слід відзначити, що разом із вагомими здобутками є декілька незначних зауважень і питань.

- (1) В роботі ретельно розглянуто особливості гідратації іону літію та ДНК в присутності іону літію. В той же час в Розділі 1 (підрозділ 1.2) обговорюється відомий факт щодо утворення С-форми подвійної спіралі ДНК саме в присутності іону літію. Далі в дисертації ця особливість системи ДНК–Li⁺ не обговорюється з точки зору одної з можливих причин описаних в роботі особливостей інфрачервоних спектрів такої системи.
- (2) В усіх розрахованих в дисертації інфрачервоних спектрах ДНК присутня інтенсивна полоса при 1800 см⁻¹. Велика кількість опублікованих за даними експериментальних досліджень ІЧ-спектрів ДНК не мають цієї полоси. Які, на Ваш погляд, причини такої розбіжності з даними експериментів.
- (3) Розділ 3. Молекулярно-динамічне моделювання систем ДНК-вода-іони: негативні заряди системи було нейтралізовано іонами K⁺. Чому використовується саме іон K⁺, а не іон Na⁺?
- (4) Розділ 3: «Моделювання МД було проведено за допомогою програмного пакета NAMD з силовим полем CHARMM36 для нуклеїнових кислот». Розділ 4, стор.92: «МД симуляції були виконані за допомогою програмного пакета GROMACS з силовим полем AMBER parmbsc1 для ДНК». Чому використовуються різні програмні пакети та відповідно різні силові поля?

В цілому, слід відзначити, що наведені зауваження не є принциповими, вони не стосуються ключових положень та висновків дисертації, оскільки здебільшого мають технічний характер і не впливають на загальну високу оцінку дисертаційної роботи.

Загальний висновок опонента. Вважаю, що дисертація Бубон Тетяни Леонідівни «Моделювання коливальної динаміки іон-гідратної оболонки подвійної спіралі ДНК» повністю відповідає спеціальності «104 Фізика та астрономія» та вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціальної вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 року. Порушень академічної доброчесності в дисертації та в наукових працях, у яких представлено результати дисертації, мною не виявлено. Надана робота безумовно заслуговує на позитивну оцінку, а її авторка, Бубон Тетяна Леонідівна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю «104 Фізика та астрономія».

Доктор фіз.-мат. наук, професор



Г. В. Шестопалова

26 березня 2025 року