

КАТЕДРА “ АТОМНА ФИЗИКА ”

ТЕЛ. 8161264; ТЕЛ.ФАКС: 862-25-46;
<http://www.atomic.phys.uni-sofia.bg>

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Леандър Литов

относно дисертационен труд
за получаване на образователната и научна степен „доктор”
на **Елена Боянова Лилкова**, редовна докторантка в катедра „Атомна физика“
на Софийския университет „Св. Климент Охридски“

Тема на дисертационния труд: *Изследване на човешки интерферон гама
чрез молекулно-динамични симулации*

Елена Лилкова се присъедини към групата по биосимулации в катедра „Атомна физика“ през 2008 г., още като студентка по физика в бакалавърска степен. По това време тази група беше в процес на формиране и започваше изследвания в една напълно нова област – компютърни симулации на взаимодействия на биологични молекули. Елена бързо започна да навлиза в тази интердисциплинарна тематика, предполагаща сериозни знания в областта на квантовата физика, физиката на класически динамични системи, биологията и високопроизводителните изчисления, като демонстрираше огромно желание за работа, съчетано със задълбочени познания във физиката, биологията и човешката анатомия и физиология. Тя бързо усвои няколко основни пакета за провеждане на симулации с използване на метода на молекулната динамика и започна работа по изследване на свързването на човешки интерферон гама с неговия извънклетъчен рецептор. През 2011 г. тя завърши магистърската програма по „Медицинска физика“ и беше зачислена за редовен докторант към катедра „Атомна физика“ на Физическия факултет. След успешно полагане на всички изпити от докторантската програма и получаване на ред интересни резултати, свързани с механизма на свързване на гама интерферон с неговия рецептор, през 2015 г. тя беше отчислена от докторантура с право на защита. Трябва да отбележа, че през последните години Елена Лилкова се наложи не само като уважаван специалист в областта на

компютърните симулации на взаимодействия на биомолекули, но и като експерт по паралелни изчисления и суперкомпютърни приложения.

Съдържание на дисертацията: В дисертационния труд са включени изследвания, в които докторантката е участвала пряко и има съществен принос в получените резултати. Те могат да бъдат обобщени в три основни направления.

Първите две направления са свързани с изследване на механизма на свързване на човешки интерферон гама (IFN γ) с неговия извънклетъчен рецептор. Интерферон гама е цитокин (сигнална молекула), която играе съществена роля във формирането на отклик в имунната система на човека. Едновременно с това той е свързан и с ред аутоимунни заболявания. Един от начините да бъде спряно или забавено тяхното развитие е да се потисне биологичната активност на интерферон гама. Това може да бъде постигнато като се попречи на IFN γ да се свърже с извънклетъчния си рецептор или като се блокира IFN γ преди да се е свързал с рецептора си. В първия случай е необходимо да се намери молекула (лиганд), която се свързва с рецептора с висок афинитет и по този начин го прави недостъпен за самия интерферон гама. Във втория е необходимо да се намери лиганд, който свързва интерферона, преди той да е достигнал до рецептора си. За да се реши тази задача е необходимо да се познават прецизно структурата и свойствата на цитокина, неговия рецептор и механизма на свързване на цитокина с рецептора. Макар и доста богата, експерименталната информация не е достатъчна, а на моменти е даже противоречива. Изход от тази ситуация е да се изгради физически модел на IFN γ и рецептора му и с негова помощ да се изследват свойствата на двете молекули и тяхното взаимодействие. След като се изяснят механизмите на взаимодействие, може да се премине и към решаване на задачата да се намерят подходящи лиганди, с чиято помощ да се инхибира активността на IFN γ . Именно на решаването на тази задача е посветена дисертацията на Елена Лилкова.

Построен е физически модел на IFN γ и неговия извънклетъчен рецептор на атомно ниво. Проведени са молекулно-динамични симулации на тези молекули, както и на техните взаимодействия. В резултат е направена обоснована хипотеза, че в процеса на свързване на IFN γ с извънклетъчния му рецептор би трябвало да участва и друга молекула. Предположено е, че това могат да бъдат гликозаминогликаните хепарин и NS-хепаран сулфат, разположени върху повърхността на клетъчната мембрана. За да стане възможна проверката на тази хипотеза, е разработено силово поле за хепариноподобни химически съединения. Проведените изследвания доказват качествено валидността на тази хипотеза. Изследвана е и ролята на C-краищата на молекулата на IFN γ . Определена е тяхната тримерна структура и е показано, че те участват съществено в процеса на свързване с рецептора.

В отделно изследване е изучена възможността да се използват генетично модифицирани молекули на IFN γ като лиганди, свързващи се с извънклетъчните рецептори. Мутациите са съсредоточени в област, отговаряща за проникването на IFN γ в ядрото на клетката. Целта е да се отделят такива мутанти, които са стабилни,

свързват се с извънклетъчния рецептор и образуват с него стабилен комплекс, но не предизвикват биологичен отклик в клетката. С помощта на развития модел и специално разработена методика са отделени като най-подходящи 12 от 100 изкуствено мутирани форми на IFN γ . Експерименталното изследване на тези кандидати за лиганди потвърждава резултатите от компютърните симулации.

Компютърното моделиране на взаимодействия на биологични молекули е нетривиална от изчислителна гледна точка задача. Системите се състоят от десетки и стотици хиляди атоми. Това води до необходимостта да се решават системи от стотици хиляди диференциални уравнения. За целта се използват паралелни изчисления, провеждани с помощта на суперкомпютри. Част от дисертацията е посветена на методически изследвания на пакетите за молекулно-динамични симулации GROMACS и NAMD с цел оптимизиране на симулационните протоколи при използване на голям брой изчислителни ядра. Определени са оптималните режими на пресмятане на далечните взаимодействия, както и разпределението на пресмятанията между процесорите. Показано е, че при внимателен подбор на параметрите на симулациите може да се достигне до съществено увеличение на производителността на пресмятанията.

Актуалност на изследванията: IFN γ играе ключова роля във формирането на имунния отклик. Установено е, че ред автоимунни заболявания са съпроводени с повишени количества на IFN γ в тялото. За лечението на тези заболявания е необходимо да се потисне биологичната активност на IFN γ . Включените в дисертацията изследвания са свързани пряко с решаването на тази задача. Въпреки че съществува огромен експериментален материал по изучаване на свойствата на IFN γ , до момента няма достатъчно пълна информация и единно мнение за процеса на свързването му с неговия извънклетъчен рецептор. Нещо повече, провежданите експерименти не позволяват по принцип да се изследват процесите на свързване на атомно ниво. За да се получи информация на такова ниво е изграден физически модел на IFN γ и неговия извънклетъчен рецептор, с помощта на който са проведени компютърни (виртуални) експерименти. Получените резултати дават съществена нова информация за свойствата и поведението на IFN γ , като едновременно с това предлагат методи за инхибиране на биологичната активност на цитокина и конкретни лиганди за осъществяването им. За решаването на поставените проблеми са използвани най-съвременните достижения в областта на молекулярната биология, физиката и високопроизводителните изчисления, Всичко това потвърждава високата актуалност на включените в дисертацията изследвания.


Приноси на дисертанта: Научните приноси на Елена Лилкова са ясно формулирани в заключителната част на дисертацията. Всички резултати, приведени в дисертационния труд, са получени с личното участие на докторантката и тя има или съществен или

водещ принос в тях. Всички компютърни симулации, резултатите от които са включени в дисертацията, са проведени лично от Елена Лилкова.

Научни публикации: Резултатите, представени в дисертацията, са публикувани в 2 статии в списания с импакт фактор, 2 статии (една публикувана и една приета за печат) в реферирани и индексирани издания (AIP Conference Proceedings) и 2 статии в сборници на конференции. Докторантката е докладвала резултатите от изследванията си на 8 международни и една национална конференции.

Заключение: Представената дисертация отговаря на всички изисквания на закона за развитие на академичния състав, както и на вътрешните правилници за неговото прилагане на Софийския Университет и Физическия факултет. Считаю, че Елена Лилкова е оформен учен с придобити умения да извършва изследвания на най-високо ниво, включително и самостоятелно, и напълно заслужава да ѝ бъде присъдена научната и образователна степен „доктор“.

20 септември 2015 г.

Подпис: 
/доц. д-р Леандър Литов/