Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0419U004659

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 31-10-2019

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Раєвський Олексій Володимирович

2. Raievskyi Oleksii volodymyrovych

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.03

Назва наукової спеціальності: Молекулярна біологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 22-10-2019

Спеціальність за освітою: Магістр біології

Місце роботи здобувача: Державна установа "Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України"

Код за ЄДРПОУ: 02128514

Місцезнаходження: Осиповського, 2А, м. Київ, Київська обл., 04123, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 26.237.01

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Акад. Заболотного, 150, м. Київ, Київська обл., 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417101

Місцезнаходження: вул. Акад. Заболотного, 150, м. Київ, Київська обл., 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.15.17, 34.15.23

Тема дисертації:

1. Молекулярна динаміка комплексів лейцил-тРНК-синтетаз бактеріального та архейного походження із помилково синтезованими продуктами реакції аміноацилювання

2. Molecular dynamics of leucyl-tRNA synthetase complexes of bacterial and archaeal types with erroneously synthesized products of aminoacylation reaction

Реферат/анотація:

1. У результаті дослідження структурних основ селективності амінокислот у аміноацилювальному сайті LeuRS із T. thermophilus ми показали картину зв'язування субстратів аміноацилювання, амінокислот та AMP, що обумовлють ймовірність утворення аміноациладенілатів. Було показано, що екранування бічним радикалом Tyr43 є механізмом захисту вже утворених амноациладенілатів (пре-трансферних субстратів) від гідролізу в процесі претрансферного редагування помилково синтезованих продуктів. Для моделювання процесу пост-трансферного редагування у CP1-домені LeuRS було підібрано та перевірено алгоритм R.E.D.III обрахунку точкових зарядів при генеруванні топології для структур аміноацил-тРНК. Протокол підготовки, запуску та аналізу результатів молекулярної динаміки було відпрацьовано, спираючись на результати

біохімічних експериментів для систем LeuRS з T.thermophilus (I клас синтетаз) та ProRS з E.faecalis (II клас синтетаз). В результаті аналіз траєкторій бактеріальної та архейної LeuRS підтвердив, що субстрат Nva-A76 зв'язується міцніше, ніж Ile-A76. З іншого боку, наша симуляція показала що причиною різниці в швидкості гідролізу для Nva-tRNALeu та Ile-tRNALeu у CP1-доменах LeuRS T.thermophilus та P. Horikoshii є бічний ланцюг Ile-A76, що стерично перешкоджає наближенню атакуючої молекул води і призводить до значного зниження швидкості гідролізу. Молекулярна динаміка мутантної форми LeuRSTt із критичною для реакції редагування заміною Asp347Ala продемонструвала важливість 3'-OH групи A76 tRNALeu та OH-групи бічного ланцюга Thr247, що відрізняється від результатів опублікованих розрахунків. На основі отриманих даних нами також запропонований механізм гідролізу Nva-A76 в LeuRSPh, схожий на представлений механізм для LeuRSTt, із різницею у просторовій орієнтації молекул води.

2. We engaged molecular docking and molecular dynamics techniques to study the structural basis of amino acid selectivity by aminoacylation site of LeuRS from T.thermophilus and to describe the binding of pre-transfer substrates. The simulation results showed some differences in the behavior of a number of aminoacylation substrates, amino acids and AMP, which determine the probability of aminoacyladenylate formation. In particular, Tyr43 radical's shielding could be a mechanism to protect already formed amnoacyladenylates from hydrolysis during pre-transfer editing of erroneously synthesized products. To simulate the post-transfer editing process in CP1 domain of the LeuRS, the R.E.D.III algorithm of partial charges fitting for aminoacyl-tRNA structures was generated and validated. The protocol of the preparation, run and the analysis of molecular dynamics results was refined based on the results of biochemical experiments for LeuRS systems from T.thermophilus (class I synthetase) and ProRS from E.faecalis (class II synthetase). The substrate's ability to be bound with the posttransfer editing site was estimated by comparing the interaction energies of the ligand with the amino acids of the site and estimation of the number of intermolecular hydrogen bonds. In the case of R.E.D. III algorithm application the conformation and water accessibility of the ester bond in leucyl-tRNA fragment significantly depends on the residue in 252 position of CP1 domain. In the WT protein the molecule of leucyl-tRNA is weakly interact with Asp347 and rarely with Thr247, a side chain of leucine is exposure out of the binding site. At the same time T252A mutation creates an additional space, which is sufficient for location of leucine and appropriate orientation of the ester's bond plane. H-bond interactions with Thr247 and Thr248 increase the probability of nucleophilic attack on the carbonyl carbon of the ligand due to stabilization of the geometry and pulling of the electron cloud density. At the same time Asp347 forms a strong interaction with amino group of leucyl-tRNA with decrease in the number of degrees of freedom. Similar study was conducted for Ala-tRNAPro from bacterial ProRS E.faecalis to confirm the quality of the simulation results. To run the simulation, a ProRS structure from E.faecalis in complex with tRNA in the editing conformation was modeled, which is significantly different from the existing crystal structures. The trajectory analysis provided an information to determine the pre-reaction coordinates in the editing site. As a result, the 2'-OH group of terminal adenosine (76) of AlatRNAPro has been identified as the most important functional element of this mechanism. The group forms a hydrogen bond with the carbonyl group of the alanine residue, which greatly facilitates the hydrolysis reaction in the presence of two water molecules and a strong hydrogen molecule network between all participants in the reaction. Thus, we demonstrated the mechanism of the post-transfer editing in ProRS and the differences in this process between aminoacyl-tRNA synthetases of class I and II. A constrained and free molecular dynamics technique have been combined to determine the factor that causes faster hydrolysis of Nva-tRNALeu compared to IletRNALeu in the CP1 domain of bacterial and archaeal LeuRSs. For this purpose, four models were constructed and relaxed via MD simulations of 100 ns. The analysis of MD trajectories showed that Nva-A76 substrate binds more strongly than Ile-A76 and the number of H-bonds and its stability, including Thr247 and Asp347 interactions, is significantly different. On the other hand, our simulation showed another possible cause of the difference in the rate of hydrolysis for Nva-tRNALeuand Ile-tRNALeucin the CP1 domains of LeuRS T.thermophilus and P.horikoshii. The simulation showed that the branched Ile-A76 side chain sterically hinders the approach of the attacking water molecules, resulting in a significant reduction in the rate of hydrolysis. The molecular dynamics of the LeuRSTt mutant form Asp347Ala, which is critical for the inactivation of the editing function, revealed a number of structural differences in the

binding of Nva- and Ile-tRNALeuin the active site of the editing domain, which may affect the selectivity during substrate hydrolysis. In our model, there are hydrogen bonds between the norvaline's carbonyl group and 3'-OH group of the A76 tRNALeu and side chain OH group of Thr247. Thus, the obtained results indicated that new quantum-mechanical calculations of the mechanism of posttransferring LeuRSTt editing in ensemble of two water molecules are needed to extend our knowledgebase. Based on the data obtained, we also suggested a mechanism of hydrolysis of Nva-A76 in LeuRSPh, which is similar to the mechanism presented for LeuRSTt, with the only difference in the spatial orientation of the water molecules.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Тукало Михайло Арсентійович
2. Tukalo Mykhailo A.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Вовк Андрій Іванович

2. Vovk Andriy I.

Кваліфікація: д. х. н., 02.00.10

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сиволоб Андрій Володимирович

2. Sivolob Andriy V.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.02

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Савицький Олександр Вячеславович

2. Savytskyi Oleksandr V.

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Сиволоб Андрій Володимирович
2. Sivolob Andriy V.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.02

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

Власне Прізвище Ім'я По-батькові голови ради — Єльська Ганна Валентинівна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні — Єльська Ганна Валентинівна

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності — Юрченко Т.А.