

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт белка Российской академии наук  
(ИБ РАН)

ул. Институтская, д. 4, г. Пушкино, Московская обл., 142290  
Тел./факс +7(495)514-02-18; факс +7(4967)318-435 E-mail: protres@vega.protres.ru  
ОКПО 02699748, ОГРН 1025007773262, ИНН/КПП 5039001220/503901001

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального  
государственного бюджетного  
учреждения науки

Института белка Российской  
академии наук

д.б.н. В.А. Колб

«07» июля 2026г.



**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт белка Российской академии наук» (ИБ РАН)**

Диссертация Столярской Марии Ярославовны на тему «Биоинформатические исследования  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ - карбоангидраз как перспективных терапевтических мишеней» выполнена в лаборатории структурных исследований аппарата трансляции Института белка РАН (ИБ РАН). В период подготовки диссертации соискатель ученой степени Столярская Мария Ярославовна с 01.09.2022 по 31.08.26 обучалась в очной аспирантуре РАН и работала в лаборатории структурных исследований аппарата трансляции ИБ РАН в должности инженера-исследователя.

Столярская Мария Ярославовна окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в 2022 г. с присвоением квалификации «Врач-биохимик» по специальности «Медицинская биохимия» (диплом специалиста 107624 4250074 от 27.06.2022). В 2021-2022 г.г. проходила специализацию в Учебном центре молекулярной биологии Института белка РАН. В 2022 г. зачислена в аспирантуру Института белка РАН на очную форму обучения (приказ № 104-к от 30.08.2022 г.). В 2026 г. окончила аспирантуру РАН на базе Института белка РАН по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология. (свидетельство

об окончании аспирантуры 105024 0029778 от 08.06.26) Кандидатские экзамены сданы (справка о сдаче кандидатских экзаменов № 210 от 27 мая 2026 г.). С 2022 года по настоящее время работает в лаборатории структурных исследований аппарата трансляции ИБ РАН в должности инженера-исследователя.

Научный руководитель: старший научный сотрудник лаборатории структурных исследований аппарата трансляции, кандидат биологических наук Никонов Олег Станиславович.

На открытом семинаре лаборатории структурных исследований аппарата трансляции ИБ РАН по итогам рассмотрения диссертации Столярской М.Я. «Биоинформатические исследования  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ - карбоангидраз как перспективных терапевтических мишеней» принято следующее **заключение**:

Диссертация Столярской М.Я. является законченной научно-квалификационной работой, которая посвящена биоинформатическому и структурному исследованию  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -карбоангидраз как перспективных терапевтических мишеней. В диссертации впервые установлены молекулярные механизмы, определяющие сродство и селективность отечественных ингибиторов нового поколения 8V8 и 8V5 к  $\alpha$ -карбоангидразе II. Это даёт основу для оптимизации подходов рационального дизайна новых селективных ингибиторов изоформ карбоангидраз. В работе также показано, что конформационные состояния активного центра  $\beta$ -карбоангидразы mtCA2 *Mycobacterium tuberculosis* устойчивы независимо от олигомерного состояния фермента, что уточняет представления о механизме функционирования  $\beta$ -карбоангидраз патогенных бактерий. Кроме того, для  $\gamma$ -карбоангидразы EсoCA $\gamma$  *Escherichia coli* впервые показана мембрано-ассоциирующая (якорная) функция N-концевого домена. Установлено, что полноразмерный и каталитически активный белок EсoCA $\gamma$  встречается преимущественно среди патогенных представителей семейства Enterobacteriaceae, тогда как укороченный неактивный гомолог YrdA характерен в основном для лабораторных штаммов *E. coli*. Это расширяет представления о структурной организации и физиологической роли  $\gamma$ -карбоангидраз бактерий и открывает перспективы для поиска новых антибактериальных мишеней. Диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым ВАК России к квалификационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

## Актуальность темы

Карбоангидразы (КА, ЕС 4.2.1.1) — семейство металлоферментов, катализирующих обратимую реакцию гидратации диоксида углерода с образованием бикарбонат-иона и протона. Эта реакция играет ключевую роль в работе бикарбонатной буферной системы, поддержании кислотно-щелочного равновесия и регуляции внутриклеточного pH у организмов всех доменов жизни. Карбоангидразы участвуют в широком спектре физиологических процессов, благодаря чему активно изучаются как мишени для разработки лекарственных препаратов.

На сегодняшний день идентифицировано восемь эволюционно независимых классов карбоангидраз ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\zeta$ ,  $\eta$ ,  $\theta$  и  $\iota$ ). Наибольший интерес в качестве потенциальных терапевтических мишеней представляют  $\alpha$ -КА человека, а также  $\beta$ - и  $\gamma$ -КА бактерий. Нарушения активности отдельных изоформ  $\alpha$ -КА человека связаны с развитием глаукомы, эпилепсии, ожирения и опухолевых процессов, тогда как  $\beta$ - и  $\gamma$ -КА патогенных микроорганизмов участвуют в адаптации к условиям организма-хозяина, что делает их перспективными мишенями для антибактериальных препаратов. Ингибиторы карбоангидраз уже применяются в клинической практике и продолжают активно исследоваться как потенциальные противоопухолевые и антимикробные соединения.

Однако, несмотря на большое количество структурных и биохимических исследований, для каждого из этих классов сохраняются существенные ограничения. Не изучены молекулярные основы селективности ингибиторов  $\alpha$ -КА — у человека этот класс представлен 15 гомологичными изоформами со сходной архитектурой активного центра, что затрудняет разработку избирательно действующих соединений. Не решён так называемый «pH-парадокс»  $\beta$ -КА патогенных бактерий — несогласованность между высокой каталитической активностью ферментов *in vitro* при щелочных значениях pH и условиями, в которых они предположительно функционируют *in vivo*; предложенная ранее модель pH-зависимой активации, связывающая активность с конформационными и олигомерными изменениями фермента, не подтверждена для большинства изоформ. Неизвестна функция дополнительного N-концевого домена  $\gamma$ -КА EcoCA $\gamma$  *Escherichia coli*, отличающего этот активный фермент от близкородственного неактивного белка YrdA, а также не установлено происхождение EcoCA $\gamma$  и её распространённость среди штаммов. Представляемая на защиту работа посвящена комплексному исследованию трёх представителей классов карбоангидраз:  $\alpha$ -карбоангидразы II быка в комплексах с ингибиторами нового поколения,  $\beta$ -карбоангидразы mtCA2 *Mycobacterium tuberculosis* и  $\gamma$ -карбоангидразы EcoCA $\gamma$  *E. coli*.

По результатам работы впервые определены структурные основы высокого сродства и селективности ингибиторов 8V8 и 8V5 к  $\alpha$ -КА II. Показано, что конформационные состояния активного центра  $\beta$ -КА mtCA2 устойчивы независимо от олигомерной формы фермента. Для  $\gamma$ -КА EsoCA $\gamma$  установлена мембрано-ассоциирующая функция N-концевого домена, а сам полноразмерный белок обнаружен у ряда патогенных представителей семейства Enterobacteriaceae.

### **Научная новизна**

В работе впервые показано, что сродство и селективность ингибиторов 8V8 и 8V5 к  $\alpha$ -КА II определяются разными механизмами: гидрофобными взаимодействиями со стерическим соответствием лиганда карману фермента для 8V8 и сочетанием гидрофобных, водородных и  $\pi$ -взаимодействий для 8V5. Методами молекулярной динамики продемонстрировано, что открытая и закрытая конформации активного центра  $\beta$ -КА mtCA2 устойчивы независимо от олигомерной формы фермента. Для  $\gamma$ -КА EsoCA $\gamma$  впервые показана мембрано-ассоциирующая функция N-концевого домена и установлено распространение полноразмерного белка среди патогенных Enterobacteriaceae, в отличие от укороченного YrdA лабораторных штаммов *E. coli*.

### **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные научные положения, выводы и рекомендации диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры нормальной физиологии с биофизикой Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации при изучении дисциплин «Нормальная физиология человека» и «Основы анатомии и физиологии человека» для студентов по следующим направлениям подготовки (специальностям): 33.02.01 Фармация; 39.03.02 Медицинская биохимия; 30.05.03 Медицинская кибернетика; 31.05.01 Лечебное дело; 31.05.02 Педиатрия; 31.05.03 Стоматология. На основе материалов диссертации подготовлено и опубликовано учебное пособие «Кислотно-щелочное равновесие крови и его физиологическое значение. Роль карбангидраз в его поддержании» (М. Я. Столярская, Е. В. Сальников, — Ярославль: ООО «Аверс Плюс», 2026. — 56 с. — ISBN 978-5-9527-0637-8), используемое при проведении лекционных и практических занятий кафедры (акт о внедрении ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России).

### **Связь темы с планом основных научных работ учреждения**

Результаты, представленные в данной работе, были получены в ходе выполнения исследований, проведенных в рамках планов научно-исследовательских работ ФГБУН Института белка РАН по теме государственного задания: Структурные и функциональные исследования белков и макромолекулярных комплексов №125011500317-6.

### **Конкретное личное участие автора в получении результатов**

Диссертационная работа выполнена автором лично. Автор принимал непосредственное участие на всех этапах исследования, включая постановку задач, получение препарата белка bSA в препаративных количествах, его очистку, а также подбор условий кристаллизации, со-кристаллизацию препарата белка с лигандами, решение и уточнение пространственных структур комплексов, анализ кристаллических структур комплексов, проведение биоинформатического анализа, выполнение молекулярно-динамических расчётов, интерпретацию полученных результатов и подготовку научных публикаций.

Органические соединения 8V5 и 8V8 были предоставлены Станиславом Калининым (Институт химии СПбГУ) и Антоном Шетневым (ЦТФТ им. Дорогова, г. Ярославль). Сбор дифракционных данных проводился Габдулхаковым Азатом Габдрахмановичем (Институт белка РАН, Пущино). Отдельные этапы работы, связанные с проведением и анализом молекулярно-динамических симуляций комплексов  $\alpha$ -КА, были выполнены совместно с Борисевич Софией Станиславовной (УФИХ УФИЦ РАН). Участие соавторов в отдельных этапах исследования надлежащим образом отражено в публикациях.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, содержащихся в диссертации**

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием сертифицированного лабораторного оборудования, современных методик при проведении экспериментов и высококачественных расходных материалов. Молекулярно-динамические симуляции для  $\beta$ -КА mtCA2 и  $\gamma$ -КА EsoCA $\gamma$  выполнены в трёх независимых повторах для каждой системы, что подтверждает воспроизводимость полученных данных. Представленные в диссертации результаты прошли этап обязательного рецензирования и опубликованы в научных журналах, которые входят в перечень рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных ВАК. Научные положения и выводы диссертации обоснованы, достоверны и основываются на экспериментальных данных, полученных автором.

## **Практическая значимость работы**

Полученные данные позволяют более обоснованно оценивать перспективность карбоангидраз различных классов в качестве терапевтических мишеней. Анализ  $\beta$ -КА может быть использован при интерпретации механизмов pH-зависимой активации фермента и при выборе наиболее перспективных бактериальных изоформ для разработки антибактериальных препаратов. Сведения о EcoCA $\gamma$  расширяют представления о доменной организации и физиологической роли  $\gamma$ -карбоангидраз бактерий. Выявленные особенности взаимодействия ингибиторов 8V8 и 8V5 с  $\alpha$ -КА II могут служить основой для разработки новых селективных ингибиторов этого класса ферментов. Результаты работы актуальны как для фундаментальных, так и для прикладных исследований карбоангидраз.

**Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите**

Работа соответствует специальности 1.5.3. – Молекулярная биология на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

## **Апробация работы**

Материалы диссертации были представлены на следующих конференциях: 26-й Пущинской школе-конференции молодых учёных с международным участием «Биология — наука XXI века» (Пущино, Россия, 2023), 62-й Международной научной студенческой конференции МНСК-2024 (Новосибирск, Россия, 2024), 6-й Российской конференции по медицинской химии (Нижний Новгород, Россия, 2024).

## **Публикации по теме диссертационной работы**

Материалы, изложенные в диссертации, в полной мере отражены в 3 статьях в научных журналах, которые входят в перечень рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных ВАК.

## **Статьи в рецензируемых журналах**

1. Stoliarskaia, M. Y. In silico analysis of the  $\gamma$ -carbonic anhydrase EcoCA $\gamma$  from Enterobacteria: assessing the role of the 72-residue N-terminal extension / M. Y. Stoliarskaia, O. S. Nikonov, S. S. Borisevich // Journal of biomolecular structure & dynamics. — 2025. — С. 1–15.

2. Stoliarskaia, M. Y. Bacterial  $\beta$ -carbonic anhydrases: a six-step prioritization framework for antibacterial target validation / M. Y. Stoliarskaia // Archives of microbiology. — 2026. — № 5. — С. 247.

3. Stoliarskaia, M. Y. X-ray analysis of complexes of carbonic anhydrase II with 1,3-oxazole-containing sulfonamide derivatives elucidates the structural basis for their exceptionally high inhibitory potency / M. Y. Stoliarskaia, S. S. Borisevich, E. O. Myaskov [и др.] // Acta crystallographica. Section F, Structural biology communications. — 2026. — № 82(Pt 4). — С. 125–135.

Диссертация Столярской Марии Ярославовны по теме: «Биоинформатические исследования  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ - карбоангидраз как перспективных терапевтических мишеней» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

Диссертация и заключение рассмотрены на открытом научном семинаре лаборатории структурных исследований аппарата трансляции Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института белка Российской академии наук. Присутствовало на заседании 12 человек. Результаты голосования: «за» – 11, «против» – 0, «воздержалось» – 1, протокол № 3 от 27 апреля 2026 года.

Заключение принято на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института белка Российской академии наук. Присутствовало на заседании 14 человек. Результаты голосования: «за» – 11, «против» – 0, «воздержалось» – 1, протокол № 5 от "8" июня 2026 г.

ПОДПИСЬ  
УДОСТОВЕРЯЮ  
ЗАВ. КАНЦЕЛЯРИИ  
ИБ РАН  
АКСЕНОВА Г.Н.

04. июля



Никонова Екатерина Юрьевна,  
к.б.н.,  
ученый секретарь ИБ РАН  
тел. 8(4967)33-03-22  
e-mail: katya\_nik@vega.protres.ru