

ОТЗЫВ
на автореферат диссертации

«Структурно-функциональные исследования мышечных изоформ Тpm1.1 и Тpm2.2 рекомбинантного тропомиозина человека» представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия

Диссертационная работа **Александра Михайловича Матюшенко** посвящена исследованию структурно-функциональных особенностей изоформ сократительного белка тропомиозина, играющего ключевую роль в механизме регуляции мышечного сокращения. Этот белок способен перемещаться по поверхности тонких нитей, влияя на взаимодействие актина с миозином. Однако как детали этой регуляции, так и ее зависимость от особенностей строения тропомиозинов (гетеродимеры, гомодимеры, точечные мутации) остаются неясными. Мышечные патологии часто связаны с одиночными мутациями в тропомиозине. Показано, что они меняют сродство тропомиозина к актину и влияют на Ca^{2+} -чувствительность сократительной системы, что в большинстве случаев приводит к потере функциональной активности.

Основной целью данного исследования было изучение структурно-функциональных особенностей различных мышечных изоформ тропомиозина для уточнения его роли в регуляции сокращения скелетных и сердечных мышц в норме и при различных наследственных заболеваниях (миопатиях и кардиомиопатиях), вызванных мутациями в генах тропомиозина. Впервые было показано, что аминокислотные замены в центральной части молекулы тропомиозина стабилизируют не только эту часть молекулы, но и всю молекулу в целом. Эти изменения приводят к стабилизации комплекса тропомиозина с актином и увеличению жесткости тонкого филамента. Впервые получены данные об изменениях функциональных свойств тропомиозина, вызванных подобной стабилизацией, что расширяет наши представления о функционировании тропомиозина в регуляции мышечного сокращения. В частности, становится понятно, что «природная» нестабильность центральной части молекулы тропомиозина необходима для тонкой регуляции мышечного сокращения.

Стабилизация центральной части молекулы тропомиозина путем замены неканонических остатков Gly126 и Asp137 на канонические остатки Arg и Leu приводит к существенному изменению доменной структуры тропомиозина с последующими изменениями его функциональных свойств. Такая стабилизация существенно увеличивает изгибную жесткость тонких нитей, снижает скорость и степень релаксации миофибрилл, а также изменяет характер взаимодействия миозина с актином.

Кардиомиопатические мутации в генах тропомиозина могут оказывать сильное влияние на функциональные свойства рекомбинантных препаратов тропомиозина, несущих соответствующие аминокислотные замены в различных частях молекулы. Многие из таких замен нарушают взаимодействие миозина с актином, регулируемое тропонин - тропомиозиновой системой, что может являться причиной гиперчувствительности тонкого филамента и приводить к неполной релаксации сердечной мышцы.

Показано, что как $\alpha\beta$ -гетеродимеры тропомиозина, так и $\alpha\alpha$ -гомодинимеры, несущие аминокислотные замены лишь в одной из двух цепей, отличаются по своим структурным и функциональным свойствам от $\alpha\alpha$ -гомодинимеров, несущих такие замены в обеих цепях молекулы. Использование подобных препаратов может служить в дальнейшем наиболее адекватной моделью для изучения свойств тропомиозина, несущего аминокислотные замены, ассоциированные с мутациями в его генах. Данные, полученные в ходе изучения тропомиозина с аминокислотными заменами, ассоциированными с кардиомиопатиями, могут быть в дальнейшем использованы для поиска новых препаратов, направленных на лечение этих наследственных заболеваний.

Представленные в диссертации данные и выводы выглядят в высокой степени достоверно, что сочетается с широким набором современных физико-химических методов исследования, использованных соискателем. В их число входят круговой дихроизм, дифференциальная сканирующая калориметрия, светорассеяние, определение сродства белков соосаждением, SDS-PAGE электрофорез, *in vitro* motility assay, ограниченный протеолиз трипсином, измерения изгибной жесткости тонких филаментов, выполненные с помощью метода оптической ловушки и другие методы.

Результаты диссертационной работы были широко представлены на научных конференциях и симпозиумах: «Белки и пептиды» (Уфа, 2013; Новосибирск, 2015), на международных симпозиумах «Биологическая подвижность» (Пущино, 2012, 2014 и 2016 г.г.), «Ломоносов»-2013 и на Европейских мышечных конференциях (Зальцбург, 2014; Варшава, 2015; Монпелье, 2016). По результатам работы опубликовано 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 24 тезиса в материалах отечественных и международных конференций. Работа была поддержана тремя грантами РФФИ, грантом РНФ и Программой «Молекулярная и клеточная биология» Президиума Российской академии наук.

Судя по автореферату диссертационной работы А.М. Матюшенко, «Структурно-функциональные исследования мышечных изоформ Trpm1.1 и Trpm2.2 рекомбинантного тропомиозина человека», данное исследование по объему и уровню проделанной работы, по значимости полученных результатов и выводов, безусловно, соответствуют основным квалификационным критериям «Положения ВАК РФ о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Заведующий Лабораторией биофизики клетки Института биологии моря им.

А.В. Жирмунского, Национальный научный центр морской биологии

Дальневосточного отделения Российской академии наук, доктор биологических наук,

Шелудько Николай Семенович

(Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17)

тел. 89025210922, эл. почта sheludko@stl.ru

29 мая 2017 г.

подпись *Шелудько НС*
Заверяю: начальник ОДО
Буренина В.Л. *Б*

