

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Анны Анатольевны Кудряевой на тему:
«Молекулярный механизм узнавания полипептидных субстратов регуляторными
субчастицами протеасомы»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 03.01.04 Биохимия

Диссертационная работа А.А.Кудряевой посвящена изучению механизма действия протеасомы, которая осуществляет внутриклеточную деградацию белков, преимущественно убиквитин-зависимым путем. Этот путь обеспечивает регулируемое расщепление многих белков, в том числе и тех, которые необходимы для контроля роста и пролиферации клеток, клеточной дифференцировки, иммунных и воспалительных реакций. Многочисленные исследования убиквитин-протеасомной реакции все еще не привели к единому пониманию деталей узнавания и взаимодействия субстратов с протеасомой. Вариативность структуры разветвленных полиубиквитиновых цепей и вклад их строения в инициацию протеасомной реакции, равно как и метаболизм собственно убиквитина, также остаются не до конца исследованными, что делает работу А.А.Кудряевой весьма и весьма актуальной. Автором в качестве одного из объектов исследования использован основной белок миелина, представляющий собой один из важных аутоантигенов при рассеянном склерозе и гидролизующийся протеасомой по убиквитин-независимому пути, что повышает актуальность и научную значимость работы А.А.Кудряевой, а в будущем может способствовать и формированию практической ориентированной составляющей исследования.

Диссертационная работа А.А.Кудряевой построена по традиционной схеме и включает в себя: введение, литературный обзор, материалы и методы, обсуждение результатов, выводы и список литературы, состоящий из 239 статей и обзоров. Диссертационная работа написана хорошим русским языком на 131 стр. и содержит 46 рисунков.

Литературный обзор занимает 31 стр., построен логично и хорошо оформлен, органически связан с темой диссертационной работы и состоит из трех частей (строение и функции протеасомы, механизмы гидролиза субстратов протеасомой, основной белок миелина), которые последовательно подводят читателя к собственно диссертационному исследованию и позволяют оценить

новизну проделанной автором работы. К очевидным достоинствам следует отнести то, что автор не только творчески и критически описывает литературные данные, но и, анализируя их, намечает перспективные направления исследований в данной области. Цитированная литература включает 194 статьи, лишь 18 из которых относятся к 90-м годам. Подавляющее большинство остальных, это работы последних 7-10 лет, включая и статьи 2017 г. По-видимому, было бы целесообразно опубликовать хотя бы часть литературного обзора, так как хороших и профессионально написанных русскоязычных обзоров на эту тему сегодня недостаточно. В качестве мелкого замечания к этой части работы можно привести не совсем удачные названия подразделов 3.2.1.4.3 и 3.2.1.6 – «p97/VCP/dc48p» (в названии желательно избегать сокращений) и «процессинг» (слишком общее для подраздела 3-го уровня размером в одну страницу).

Набор методов, которые потребовались А.А.Кудряевой для выполнения диссертационной работы, и которыми она овладела, вызывает уважение. Далекое не полный список включает в себя методики работы с нуклеиновыми кислотами, белками, в том числе и различные виды хроматографии, необходимые для выделения протеасом и очистки рекомбинантных белков, а также методы работы с бактериями, клетками эукариот и лабораторными животными. Все это однозначно характеризует А.А.Кудряеву как успешного и высококлассного экспериментатора. Подобный универсализм и многогранность сегодня далеко не всегда характерен для молодых ученых и могут быть занесены в актив А.А.Кудряевой. В тоже время раздел «Материалы и методы», на удивление, начинается с очень детального перечисления солей и буферов («основные реактивы: трис-гидроксиметиламинометан, хлорид натрия, хлорид магния, и т.п.»), что, на мой взгляд, представляется некоторым диссонансом с описываемыми далее сложными биохимическими и молекулярно биологическими методами, использованными в данной диссертационной работе.

Глава «Результаты и обсуждение» состоит из трех частей. Если следовать порядку изложения в диссертации, то А.А.Кудряева сначала успешно адаптировала метод PRIME для анализа деградации белков протеасомой. Затем ей впервые удалось оценить время жизни в клетке собственно убиквитина и полиубиквитиновых цепей различного строения, что очевидным образом критично

для правильного функционирования убиквитин-протеасомного пути деградации белков. Наконец, была исследована стехиометрия ковалентных комплексов убиквитин – белковый субстрат. Таким образом, исследования в этой части работы развивались по нарастающей и на каждом этапе были получены значимые для области результаты.

Аналогичная стратегия исследования и изложения экспериментальных данных была использована автором и во второй части этой главы, центром которой является основной белок миелина (как показано в диссертационной работе, именно аномальный положительный заряд служит одним из триггеров ассоциации с протеасомой), представляющий собой один из основных аутоантигенов при рассеянном склерозе и деградирующий по убиквитин-независимому пути.

В третьей части этой главы была исследована возможность направленного создания ингибиторов гидролиза основного белка миелина, активных *in vitro* и *in vivo*. Успех этих экспериментов свидетельствует о том, что исследование, выполненное А.А.Кудряевой, расширило представления о механизмах протеасомной деградации миелина и привело к появлению новых данных, которые позволили построить достаточно адекватную картину работы этой системы, анализируя которую и удалось найти активно действующие структуры.

Отличительной стилистической особенностью главы “Результаты и обсуждение“ является то, что каждый раздел и подраздел, описывающий результаты системы конкретных экспериментов, заканчивается кратким выводом. Подобное построение главы облегчает восприятие результатов, позволяет легко составить общую картину работы и свидетельствует о том, что диссертант является уже вполне сложившимся исследователем высокой квалификации, способным к постановке и решению сложных биохимических задач.

В заключение А.А.Кудряева, суммируя и логически анализируя полученные результаты, формулирует выводы, которые основываются на полученных данных, однозначно из них следуют и вполне соответствуют поставленным задачам.

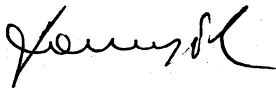
Автореферат, как и вся диссертация, прекрасно оформлен и соответствует содержанию диссертации. Основной материал диссертации опубликован в 5-ти статьях в отечественных и зарубежных рецензируемых журналах и докладывался автором на 10-ти всероссийских и международных конференциях и конгрессах.

Принципиальных замечаний по работе нет, а некоторые мелкие недостатки и неточности, представленные выше в тексте отзыва, носят лишь рекомендательный характер.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Анны Анатольевны Кудряевой «Молекулярный механизм узнавания полипептидных субстратов регуляторными субчастицами протеасомы», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук, является законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует требованиям, изложенным в п. 9 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утверждённом Постановлением Правительством Российской Федерации от 24.09.2013г. № 842, и профилю диссертационного совета Д 002.247.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Работа отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Официальный оппонент

Ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных основ действия физиологически активных соединений
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук.
Адрес: ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32
Тел.: 8-499-1356065, e-mail: alexkhom@list.ru
доктор химических наук,
специальность 03.01.03 молекулярная биология
Алексей Радиевич Хомутов



«12» февраля 2018 г.

Подпись д.х.н. А.В. Хомутова заверяю:

Ученый секретарь ИМБ РАН
к.в.н., **А.А. Ботарев**

