

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Виктории Викторовны Нефёдовой «Влияние аминокислотных замен в кристаллиновом домене, коррелирующих с развитием периферических невропатий, на структуру и свойства малого белка теплового шока HSPB1», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Известно, что белки теплового шока, действуя как внутриклеточные шапероны, играют важную роль в белок-белковых взаимодействиях, стабилизируют частично свернутые белки и препятствуют нежелательной агрегации белков. Эти свойства белков теплового шока необходимы для нормального функционирования биологических систем, и их изменения могут быть причиной возникновения патологий, в том числе, нейродегенеративных заболеваний. Будучи белками стресса, белки теплового шока являются частью системы «быстрого реагирования» клетки при неблагоприятных воздействиях. Еще одной частью такой системы является цитоскелет, как комплекс наиболее динамичных клеточных структур. Когда речь идет о клетках нервной системы, это, в первую очередь, промежуточные филаменты цитоскелета, нейрофиламенты. Поэтому работа В.В. Нефёдовой, направленная на изучение механизмов влияния белков теплового шока на компоненты нейрофиламентов, безусловно, актуальна и важна как в теоретическом плане, так и практически.

Основная часть работы В.В. Нефёдовой посвящена изучению физико-химических свойств мутантных форм малого белка теплового шока HspB1 с аминокислотными заменами G84R, L99M, R140G и K141Q, экспрессия которых коррелирует с развитием наследственных нейродегенеративных заболеваний. В ходе выполнения работы получены гомогенные препараты рекомбинантного малого белка теплового шока человека HspB1 и вышеуказанных вариантов этого белка. Показано, что точечная аминокислотная замена R140G, затрагивающая консервативный остаток Arg в β 7-складке HspB1, сопровождается уменьшением собственной триптофановой флуоресценции, понижением термостабильности и увеличением чувствительности HspB1 к протеолизу. Эта замена приводит также к значительному уменьшению шапероноподобной активности HspB1, измеренной *in vitro* по способности предотвращать агрегацию белков-субстратов, агрегацию которых вызывали различными химическими или физическими воздействиями. Показано также, что белок HspB1 R140G образует гетероолигомеры с белком дикого типа, что может препятствовать нормальному функционированию HspB1 в клетке.

Для выявления взаимодействия белка HspB1 с компонентами нейрофиламентов было исследовано влияние HspB1 дикого типа и его модификаций на полимеризацию белка легкой цепи нейрофиламентов (NFL). С этой целью были использованы методы седиментации, электронной микроскопии и определения кинетики полимеризации флуоресцентно меченого NFL. Полученные результаты показывают, что малый белок теплового шока HspB1 взаимодействует с белком легкой цепи нейрофиламентов NFL и ингибирует полимеризацию нейрофиламентов, образованных NFL, при этом эффект

мутантных форм белка сопоставим с эффектом белка дикого типа. Эти результаты чрезвычайно интересны и несомненно требуют дальнейшего развития – возможно, с применением современных подходов крио-электронной микроскопии.

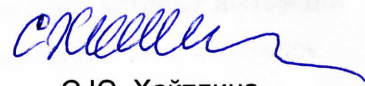
В целом, диссертация В.В. Нефёдовой отличается четкостью поставленной задачи и высоким уровнем экспериментальной работы, направленной на ее решение. Привлекает внимание репертуар использованных В.В. Нефёдовой методов, в который входят не только современные методы анализа белков (включая анализ кристаллической структуры белка), но также получение рекомбинантных белков и использование метода лентивирусной трансдукции для получения клеток, стабильно синтезирующих разные формы белка HspB1.

Таким образом, работа В.В. Нефёдовой является высокопрофессиональным исследованием, которое характеризует автора как специалиста в области биохимии, владеющего широким арсеналом подходов и методов. Результаты работы опубликованы в международных журналах, причем В.В. Нефёдова является первым автором в 4 из 5 опубликованных статей. Автореферат диссертации хорошо написан, легко читается и может быть полезен при разработке стратегии подобных исследований.

У меня есть замечание технического характера, оно касается названия диссертации и не носит принципиального характера. Мне кажется, что название «Влияние аминокислотных замен в кристаллиновом домене малого белка теплового шока HSPB1, коррелирующих с развитием периферических невропатий, на структуру и свойства этого белка» было бы более понятным для читателя.

Заключение. Работа В.В. Нефёдовой выполнена на современном научном уровне, содержит приоритетные результаты и соответствует требованиям, «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842, а автор диссертации, Виктория Викторовна Нефёдова, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия

Ведущий научный сотрудник
Отдела клеточных культур
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии Российской академии наук,
доктор биологических наук


С.Ю. Хайтлина

Контактные данные организации: 194064 Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4
Тел. 8-812-297 29 18, E.mail: Sofia Khaitlina [skhspb@gmail.com]



Хайтлина С.Ю.

27.01.2018
Хайтлина