

ОТЗЫВ

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

Малые белки теплового шока (sHsp) в последние десятилетия привлекают пристальное внимание многих исследователей, что объясняется участием этих белков в регуляции ключевых процессов жизнедеятельности, а также тем, что имеется связь между sHsp со многими заболеваниями, такими, как различные виды миопатий и невропатий, онкологические заболевания, болезни Альцгеймера, Паркинсона и многие другие. Установление такой связи является несомненно важной и злободневной задачей биологии и медицины. Целью работы В.В. Нефёдовой являлся анализ структуры и свойств мутантных форм малого белка теплового шока HspB1 с аминокислотными заменами G84R, L99M, R140G и K141Q, экспрессия которых коррелирует с развитием наследственных нейродегенеративных заболеваний. Работа велась как на молекулярном, так и на клеточном уровне, что является ее несомненным достоинством.

Диссертантом получены гомогенные препараты рекомбинантного HspB1 с аминокислотными заменами G84R, L99M, R140G и K141Q. Для изучения полученных белков диссертантом применен набор экспериментальных методов, включающий в себя метод собственной триптофановой флуоресценции, метод ограниченного трипсинолиза, метод фосфорилирования, методы гель-фильтрации и аналитического ультрацентрифугирования. Умелое применение этих экспериментальных методов позволило ей получить надежные экспериментальные данные.

В результате исследования обнаружено, что все полученные мутантные белки образуют гетероолигомеры с HspB6, размеры которых меньше гетероолигомеров, образованных HspB1 дикого типа и HspB6. Установлено, что замена консервативного остатка R140, расположенного в β 7-складке, в области контакта мономеров в составе димера HspB1, оказывает наибольшее влияние на структуру и уменьшает шапероноподобную активность белка, а замены G84R и L99M приводят лишь к незначительному уменьшению шапероноподобной активности HspB1, измеренной *in vitro*. Обнаружено также, что аминокислотные замены в α -кристаллиновом домене не влияют на способность HspB1 ингибировать полимеризацию легкой цепи нейрофиламентов. Показано, что α B-кристаллин (HspB5) взаимодействует с белком легкой цепи нейрофиламентов и ингибирует его полимеризацию. Белки HspB6 и HspB8 менее эффективны в регуляции полимеризации белка нейрофиламентов.

Следует отметить небольшую неточность в интерпретации диссертантом экспериментальных данных по триптофановой флуоресценции мутантных белков. Уменьшение интенсивности (квантового выхода) флуоресценции мутантных белков по сравнению с интенсивностью флуоресценции белка дикого типа вовсе не говорит об экспонировании остатков триптофана растворителю, поскольку этот параметр флуоресценции зависит от конкретного локального окружения хромофора в белке. Тушение флуоресценции может произойти и без выхода хромофора в водное окружение. В этом случае более информативным параметром является положение максимума спектра

флуоресценции: при экспонировании триптофанового хромофора растворителю, происходит, как правило, сдвиг максимума спектра в длинноволновую область.

Сформулированные автором четыре вывода и три положения, выносимые на защиту, полностью обоснованы. Вся работа В.В. Нефедовой выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровне. Результаты работы отражены в пяти статьях в международных научных журналах с достаточно высоким импакт-фактором.

Таким образом, по объему приведенных в автореферате диссертации надежных экспериментальных результатов и по их научной значимости работа В.В. Нефедовой полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а ее автор несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

23 января 2018 г.

Доктор биологических наук, профессор

главный научный сотрудник ИБП РАН



Е.А. Пермяков

Контактные данные организации:

Институт Биологического приборостроения с
опытным производством Российской академии наук
142290 Московская область, г. Пущино
ул. Институтская 7, ИБП РАН
e-mail: epermyak@yandex.ru

пр/ верно: инсп. по кадрам



Т.Ю. Волосубева