

119121, гор. Москва, ул. Погодинская, 10, стр.8

тел.: (+7/499) 246-69-80, (+7/499) 246-34-66, факс: (+7/499) 245-08-57, эл. почта: inst@ibmc.msk.ru, <http://www.ibmc.msk.ru>

ОКПО 01897373, ОГРН 1027739053792, ИНН/КПП 7704084419 / 770401001, OKATO 45286590000

№ 54/1

«06» февраль 2018 г.

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт
биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»
академик РАН


А. В. Лисица

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Анны Анатольевны Кудряевой
«Молекулярный механизм узнавания полипептидных субстратов регуляторными
субъединицами протеасомы»,
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 03.01.04 - Биохимия

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Кудряевой Анны Анатольевны посвящена изучению механизмов работы протеасомы – мультисубъединичного протеиназного комплекса. Правильное функционирование данного комплекса необходимо для поддержания белкового гомеостаза клетки и корректной регуляции клеточных процессов. Несмотря на активное изучение убиквитин-протеасомной системы, до сих пор не существует четкого понимания механизмов ассоциации субстратов с протеасомой. В подавляющем большинстве случаев сигналом протеасомной деградации белка-мишени является цепь из молекул убиквитина, ковалентно связанная с этим белком. Однако, известно также о существовании убиквитин-независимого пути деградации субстратов, молекулярные механизмы которого практически не изучены. Глубокое исследование механизмов работы протеасомы может в дальнейшем быть использовано в создании лекарственных препаратов, направленных на

тканеспецифичное и избирательное ингибирование протеолитической активности протеасом.

Структура и основное содержание диссертации

Диссертация Кудряевой Анны Анатольевны изложена на 131 странице, составлена по стандартной схеме и включает следующие разделы: список сокращений, введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, описание и обсуждение результатов, заключение, выводы и список цитируемой литературы, включающий 239 источников. Работа содержит 46 рисунков.

Во «Введении» сформулированы: актуальность темы, цели и задачи, научная новизна и практическая значимость работы, а также основные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы непосредственно связан с темой исследования, в нем описано современное состояние исследований по изучению функционирования убиквитин-протеасомной системы, а также детальное описание известных на настоящий момент механизмов работы протеасомного комплекса. Материал обзора хорошо структурирован и четко изложен.

В главе «Материалы и методы» детально описаны объекты исследования и методы, использованные в диссертационной работе.

Глава «Результаты и обсуждение» является основным разделом работы и состоит из трех разделов. В первом разделе описана оптимизация методики внутриклеточного ферментативного мечения полипептидных субстратов низкомолекулярным флуорофором резорубином (метод PRIME) для анализа их деградации протеасомой в физиологических условиях. С использованием данной методики было впервые оценено время жизни убиквитина, которое оказалось равно четырем часам, а также полиубиквитиновых цепей разного типа ветвления. Кроме того, было определено число мономерных единиц убиквитина, приходящееся на одну молекулу субстрата в состоянии динамического равновесия.

Второй раздел содержит описание детального изучения механизма убиквитин-независимой деградации субстрата на примере основного белка миелина (МВР), являющегося одним из основных аутоантигенов при рассеянном склерозе. Было обнаружено, что ассоциация данного субстрата с регуляторными субъединицами протеасомы обусловлена его высоким положительным зарядом. Кроме того, на основе аминокислотной последовательности МВР был создан миелин-подобный дегрон, способствующий эффективной деградации субстратов в отсутствие убиквитина. Было продемонстрировано, что REG α регуляторная субъединица протеасомы непосредственно участвует в ассоциации МВР с протеасомой. Помимо этого, было показано, что количество данных субъединиц протеасомы возрастает в клетках при воздействии воспалительного

стимула, что дополняет картину функциональной значимости убиквитин-независимого гидролиза MBP при аутоиммунной нейродегенерации.

В третьем разделе главы «Результаты и обсуждение» приведены результаты апробирования несколько подходов к направленному замедлению гидролиза MBP, путем действия как на саму протеасому, так и на субстрат. Было показано, что специфический ингибитор иммуносубъединицы протеасомы $\beta 1i$ селективно воздействует на протеасому. С другой стороны, деиминирование MBP под воздействием PAD препятствует взаимодействию MBP с протеасомой, что в свою очередь замедляет гидролиз MBP *in vitro* и *in vivo*.

Общее заключение

Результаты исследования опубликованы в 15 печатных работах, включающих 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 10 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях.

Содержание автореферата и опубликованные статьи полностью отражают результаты и основные выводы выполненной диссертационной работы.

Выводы, представленные в диссертационной работе Кудряевой Анны Анатольевны, полностью соответствуют полученным результатам, являются достоверными и четко обоснованными.

При тщательном ознакомлении с диссертационной работой Кудряевой Анны Анатольевны серьезных недостатков не выявлено. Диссертационная работа логично выстроена, хорошо написана и тщательно оформлена. Можно сделать только мелкие замечания относительно некоторых стилистических погрешностей.

Высокий методический уровень, актуальность поставленных задач и научно-практическая значимость полученных результатов соответствуют требованиям ВАК предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Диссертационная работа Анны Анатольевны Кудряевой «Молекулярный механизм узнавания полицептидных субстратов регуляторными субъединицами протеасомы», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 Биохимия, является законченным научным исследованием, отвечающим в полной мере по актуальности проблемы, методическому уровню, объему, новизне полученных результатов, их фундаментальной и научно-практической значимости всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, в редакции от 21.04.2016 г. №335, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор безусловно заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Отзыв заслушан и утвержден на расширенном научном семинаре лаборатории межмолекулярных взаимодействий, протокол № 01 от 05 февраля 2018 года.

Заведующий лабораторией межмолекулярных взаимодействий

Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»,

д.б.н., профессор



Иванов А.С.

«06» февраля 2018 г.