

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дергоусовой Е.А. «**Влияние глутатионилирования α 1-субъединицы Na,K-АТРазы на свойства фермента**», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Диссертационная работа Дергоусовой Е.А посвящена новой и весьма актуальной проблеме: изучению давно известной, но малоизученной проблеме посттрансляционной модификации белков под действием глутатиона (глутатионилирование). Объектом исследования Дергоусова Е.А. выбрала Na,K-АТРазу – фермент плазматической мембраны, участвующий прямо и косвенно во многих процессах, регулирующих гомеостаз и функции клеток животных. Na,K-АТРаза представляет собой ионный насос, переносящий ионы натрия и калия через мембрану против электрохимического градиента, используя при этом энергию, освобождающуюся при гидролизе АТР. Она участвует в восстановлении мембранныго потенциала нервных и мышечных клеток после прохождения волны возбуждения; обеспечивает работу переносчиков, использующих градиент натрия для транспорта ряда химических соединений и ионов, ее функционирование тесно связано с регуляцией объема клеток. Недавно обнаружена и другая функция Na,K-АТРазы – рецепторная. При связывании с соединениями, относящимися к классу кардиотонических стероидов, происходит ингибирование активности фермента. В то же время вследствие изменения конформации в результате связывания данных соединений происходит взаимодействие Na,K-АТРазы с белками-партнёрами, что активирует определенные сигнальные каскады, изменяющие функциональное состояние клеток. Работа фермента с множественной функцией должна тонко регулироваться в зависимости от изменения условий.

Известно, что трипептид глутатион, который является компонентом окислительно-восстановительного буфера клетки и обеспечивает ее защиту от окислительного стресса, способен модифицировать значительное количество свободных SH-групп Na,K-АТРазы. Изучению связи этой посттрансляционной модификации фермента с его функциональной активностью посвящена работа Дергоусовой Е.А.

В своей работе автор исследует влияние степени глутатионилирования α 1-субъединицы Na,K-АТРазы на ее каталитическую активность, устойчивость к трипсинолизу, а также связывание фермента с кардиотоническим стероидом уабаином и шапероном Hsp70. В ходе работы установлено, что α 1-субъединица Na,K-АТРазы подвергается глутатионилированию в нормальных физиологических условиях (повидимому, еще в клетке), при этом белок не может быть полностью деглутатионилирован

даже в результате обработки сильными химическими восстановителями в присутствии денатурирующих агентов. Опираясь на полученные результаты, автор предполагает, что подобное «исходное» глутатионилирование фермента необходимо для изменения ее структуры, что подтверждается в дальнейшем экспериментами по ограниченному трипсинолизу Na,K-АТРазы. При исследовании влияния глутатионилирования на активность фермента Дергоусова Е.А. подтверждает литературные данные о том, что модификация только определённых цистeinовых остатков ингибирует работу фермента. Кроме того, автор показывает, что фермент, находящийся в различных конформационных состояниях, глутатионилируется по-разному: максимальное включение глутатиона в белок происходит в «открытой» E1-конформации, и минимальное – в конформации E2P (-убаин). Таким образом, работа Дергоусовой Е.А. расширяет наши знания о влиянии глутатионилирования различных цистeinовых остатков на функции Na,K-АТРазы.

Автореферат написан четко и грамотно, все результаты в полной мере проиллюстрированы, гипотеза автора о функциональной значимости глутатионилирования разных цистeinовых остатков α 1-субъединицы Na,K-АТРазы отражена в наглядной схеме. Выводы работы обоснованы и соответствуют поставленным задачам. Результаты работы полностью представлены в публикациях автора.

Таким образом, диссертация Дергоусовой Е.А. удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук пунктом 9 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, а её автор заслуживает присвоения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Ст.н.с. лаборатории инженерной энзимологии
ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН»
к.б.н. по специальности – 03.01.04
адрес: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2
E-mail: ivkrauchenko@yandex.ru
телефон: 89104209524
28. 09.2018



Кравченко Ирина Валерьевна

Подпись И.В.Кравченко заверяю.
Ученый секретарь «Фундаментальные основы
биотехнологии» РАН», к.б.н.

А.Ф.Орловский