

ОТЗЫВ

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

В своей диссертационной работе, Дергоусова Е.А., исследует Na, K-АТразу – трансмембранный фермент, являющийся ионной помпой и переносящий ионы Na^+ и K^+ через мембрану против электрохимического градиента. Na, K-АТРаза представляет собой многофункциональный белок, выполняющий ряд жизненно важных для клетки функций, таких как поддержание потенциала на мембране; обеспечение транспорта ряда химических соединений и ионов, сопряженного с переносом натрия; выполнение рецепторной функции и ряда других. Работа Na, K-АТРаза регулируется за счёт ряда механизмов, в частности посттрансляционных модификаций аминокислотных остатков фермента. В работе автор останавливается на глутатионилировании – модификации SH-групп цистеиновых остатков трипептидом глутатионом, являющимся частью антиоксидантной системы клетки. Na, K-АТРаза имеет 23 остатка цистеина, некоторые из которых несут связанный глутатион в нормальных физиологических условиях (исходное глутатионилирование), а другие могут глутатионилироваться в состоянии окислительного стресса (дополнительное глутатионилирование). Однако глубокого понимания функционального значения данной модификации в разных окислительно-восстановительных состояниях клетки пока нет.

Целью работы автор ставит изучение влияния исходного глутатионилирования и дополнительного глутатионилирования цистеиновых остатков каталитической субъединицы на функции фермента. Для достижения этой цели автор выделяет следующие задачи:

- 1) получить максимально глутатионилированный и деглутатионилированный препараты Na, K-АТРаза и определить влияние этой модификации на активность фермента;
- 2) исследовать влияние глутатионилирования на устойчивость каталитической субъединицы фермента к трипсинолизу;
- 3) исследовать влияние глутатионилирования на связывание фермента с одним из лигандов – убаином и с одним из белков-партнёров – шапероном Hsp70.

Для выполнения поставленных задач Дергоусова Е.А. использовала очищенный препарат Na, K-АТРаза из солевых желёз утки, имеющий высокую степень гомологии с ферментом из клеток млекопитающих.

В ходе работы автором было показано, что каталитическая субъединица Na, K-АТРаза содержит связанный глутатион, который не может быть полностью удалён

с SH-групп её цистеиновых остатков даже при использовании сильных восстановителей в денатурирующих условиях. Кроме того, было выявлено, что глутатионилирование может влиять на устойчивость α -субъединицы к трипсинолизу, но не влияет на характер связывания фермента с лигандом убаином и шапероном Hsp70.

В связи с этим к работе есть ряд вопросов и замечаний. Можно было бы рассмотреть не только действие трипсина, но и других протеаз для получения более полной картины. Так же можно было в экспериментах по изотермической калориметрии титрования взять несколько лигандов или белков-партнёров. Эти данные позволили бы шире взглянуть на проблему. Кроме того, было бы интересно провести масс-спектрометрический анализ протеолитических фрагментов и установить, являются ли эти фрагменты одинаковыми при трипсинолизе различных конформаций каталитической субъединицы Na, K-АТРазы.

Тем не менее, приведенные замечания не носят принципиального характера и позволяют в заключении сказать, что диссертационная работа Дергоусовой Е.А. является полноценным и актуальным исследованием и удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №355, в редакции Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. №748, к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присвоения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Липкин Алексей Валерьевич
к.х.н. по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия
Заместитель начальника отдела Курчатовского Комплекса
НБИКС-природоподобных технологий,
НИЦ «Курчатовский Институт»
e-mail: Lipkin_AV@nrcki.ru
Телефон: 8-(499)-196-71-00(31-67)

01.10.18

Подпись сотрудника НИЦ «Курчатовский институт» Липкина А.В. заверяю

Главный учёный секретарь

НИЦ «Курчатовский институт» в Ф-М.И.

Адрес:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»)

123182, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

Телефон: +7 (499) 196-95-39

e-mail: nrcki@nrcki.ru



С.Ю. Стремоухов