

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

Тугаевой Кристины Владимировны

«Структура и функциональные свойства стероидогенного регуляторного белка (STARD1)

человека», предоставленную на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

по специальности 1.5.4. «Биохимия»

Представленная работа Кристины Владимировны посвящена актуальной проблеме на стыке биохимии и структурной биологии - исследованию молекулярных механизмов взаимодействия одного из ключевых транспорта холестерина, белка STARD1. Транспорт холестерина внутрь митохондрий является одним из ключевых этапов в пути биосинтеза стероидных гормонов, в реализации которого принимает участие целый набор белков и белковых комплексов. Неудивительно, что такой важный для клетки процесс находится под строгим метаболическим контролем, в котором не последнюю роль играет фосфорилирование белка STARD1. Автор в своей диссертационной работе проводит детальное исследование влияния фосфорилирования STARD1 в позициях Ser⁵⁷ и Ser¹⁹⁵ на его функциональную активность в связывании лигандов стероидной природы, а также на участие универсальных белков-адаптеров 14-3-3 в образование комплекса STARD1^{PHOS}::холестерол::14-3-3 и детальное описание его биохимических и структурных параметров. Среди несомненных достижений соискателя является разработка методов получения целевого белка STARD1 в растворимой форме, детальное описание структуры белка спектральными методами (КД, флуоресценцией триптофанов), методами аналитической гель-фильтрации и методом малоуглового рассеяния рентгеновских лучей и др. Впервые было проведено детальное исследование констант связывания белка STARD1 с рядом флуоресцентных производных холестерина с различным положением флуоресцентной группы, а также с различной длиной линкера. Автором также получены фосфо-формы белка STARD1, методом аналитической гель-хроматографии комплекса STARD1^{PHOS}::14-3-3 определены молекулярные массы и стехиометрия комплекса, методом поверхностного плазмонного резонанса определены константы диссоциации. Также, методом анизотропии флуоресценции с использованием флуоресцентного производного холестерина были определены параметры кинетики релаксации флуоресценции и проведена оценка размеров и стехиометрии данных комплексов. Таким образом, автором с помощью широкого набора химических, биохимических, физико-химических и физических методов на основании полученных экспериментальных данных, удалось предложить молекулярную

модель процесса транспорта холестерина внутрь митохондрии с участием белков STARD1^{PHOS} и 14-3-3.

Несмотря на высокий уровень работы, как с инструментальной точки зрения, так и строгой логики в построении экспериментов, есть некоторые вопросы, на которые хотелось бы получить разъяснение:

1. Непонятна интерпретация быстрой компоненты кинетики релаксации анизотропии флуоресценции как «способность вращения внутри полости белка». При этом соотношение быстрой и медленных компонент находится в примерном соотношении 50/50. Если хромофор способен к свободному вращению, находясь в связанном состоянии, то непонятно откуда появляется медленная компонента? Возможна ли следующая интерпретация, что белок находится в динамическом равновесии и лиганд-связывающий карман находится в «открытой» и «закрытой» конформациях с соотношением 1:1, что дает возможность такому вращению? Возможны ли другие объяснения данному феномену? Например, наличие «неспецифического» сайта связывания, или диссипации энергии, например за счет FRET взаимодействия, приводящая к кажущему увеличению скорости релаксации?
2. Автор в автореферате совсем не упоминает о изоформах белка 14-3-3, а также о параметрах их взаимодействия в комплексе с белком STARD1^{PHOS}. Вероятно это сделано в целях экономии места. Существует какая-то специфичность у разных изоформ при взаимодействии со STARD1^{PHOS} и меняются ли параметры связывания тройного комплекса с разными изоформами 14-3-3?

Сам текст автореферата не лишен небольших недочетов. Встречаются жаргонизмы, такие как «фитирование», хотя автор далее использует менее жаргонный термин - «аппроксимация». Данные K_d для флуоресцентных производных холестерина в тексте работы приведены без стандартных ошибок и их приходится выискивать на рисунках. В печатной версии автореферата часть рисунков напечатана в черно-белом варианте, однако в подписях к рисункам (Рис.6 и 8) идет отсылка к цвету на моделях взаимодействий.

Несмотря на возникшие вопросы и небольшие замечания, диссертационная работа Кристины Владимировны Тугаевой является законченным квалификационным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне с детальным теоретическим обоснованием и экспериментально подтвержденными выводами. Достоверность результатов исследования подтверждена в научной печати, в том числе в международных журналах.

Таким образом, данная работа полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 с изменением Постановления Правительства Российской Федерации от 24 апреля 2016 г. № 365, а автор Тугаева Кристина Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Кандидат биологических наук по специальности
1.5.3 (03.01.03) – «молекулярная биология»,
старший научный сотрудник кафедры
биохимии биологического факультета МГУ
им. М.В. Ломоносова

25.04.2023г.

/Клычников Олег Игоревич/

119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет;
e-mail: Ollie.Klychnikov@mail.ru; тел.: +7 (977) 871-44-86

