

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Шатова Владислава Михайловича
«N-концевой домен малых белков теплового шока: участие в олигомеризации и белок-белковых
взаимодействиях»,
представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Диссертационная работа Шатова В.М. посвящена анализу влияния делеций и точечных аминокислотных замен в N-концевом домене пяти малых белков теплового шока (sHsp) человека на их четвертичную структуру и физико-химические свойства. Выяснение механизмов участия N-концевого домена в процессе построения четвертичной структуры sHsp является важным и актуальным, так как N-домены участвуют в образовании гетероолигомерных комплексов sHsps. Кроме того, мутации в N-концевом домене сопряжены с развитием тяжелых наследственных заболеваний. Малые белки теплового шока играют важную роль в поддержании клеточного протеостаза. sHsps связывают не-нативные и частично развернутые белки, удерживая их от дальнейшей агрегации и защищая клетку от токсичных агрегатов. Помимо проявления антиагрегационной (шапероноподобной) активности, эти белки участвуют во многих важных процессах в клетке, таких как апоптоз, стабилизация цитоскелета, регуляция мышечного сокращения, поддержание RedOX состояния клетки и т.д. Нарушение регуляции sHsps ассоциируется с онкологией, формированием катаракты и нейродегенеративными заболеваниями. Считается, что динамичная четвертичная структура необходима для функционирования sHsps. Динамика sHsp является очень сложным процессом, включающий пять уровней регуляции: (1) гибкие C- и N-домены, фланкирующие α -кристаллиновый домен, (2) полидисперсная гомоолигомеризация, (3) гетероолигомеризация с другими sHsp, (4) обмен субъединицами и (5) регуляция внутриклеточным окружением. Краудинг добавляет еще один уровень сложности во взаимосвязь между активностью и структурной динамикой sHsp. Поскольку краудинг оказывает сильное влияние на белок-белковые взаимодействия, он должен влиять на конформацию и самоассоциацию шаперона, а также на его взаимодействие с белком-мишенью. Детальное понимание механизмов участия гибкого и частично разупорядоченного N-концевого домена в процессе построения четвертичной структуры sHsp остается еще недостаточно изученным. В свете вышесказанного определение механизмов влияния делеций и точечных мутаций в N-концевом домене некоторых sHsp человека на структуру и свойства шаперона имеет фундаментальное значение.

Шатовым В.М. проделана большая экспериментальная работа, выделены в гомогенном виде α -кристаллиновые домены 5 малых белков теплового шока, исследована их четвертичная структура и способность встраиваться в олигомеры полноразмерных белков, а также белков, содержащих делеции и мутации в N-концевом домене. Автором разработана методика выделения рекомбинантного HspB7 человека и установлено, что N-концевой домен играет важную роль в ассоциации и агрегации этого белка. Получен целый ряд интересных результатов: установлено, что α -кристаллиновые домены HspB7 и HspB8 представлены в растворе в виде мономеров, в то время как α -кристаллиновые домены белков HspB1, HspB5 и HspB6 представлены в виде димеров. Интересно отметить, что полноразмерный HspB8 является мономером, а HspB7 способен образовывать небольшие олигомеры. Такие отличия четвертичной структуры HspB8 и HspB7 от структуры, например, HspB1 и HspB5, которые

способны образовывать крупные олигомерные ансамбли, автор объясняет особенностями строения α -кристаллинового и N-концевого доменов HspB8 и HspB7, а также отсутствием консервативного IPV мотива в C-концевом домене этих белков. Автором установлено, что точечные замены серина на фенилаланин (S10F) или пролина на лейцин (P20L) в N-концевом домене HspB6, коррелирующие с развитием кардиомиопатии, приводят к увеличению гидрофобности, понижению термостабильности и изменению шапероноподобной активности белка. Кроме того, в условиях краудинга, создаваемого добавлением триметиламин-N-оксида, белки с точечными заменами склонны ассоциировать с образованием олигомеров значительно большего размера, чем белок дикого типа.

Считаю, что диссертация Шатова В.М. по актуальности темы, научной новизне, объему выполненных исследований, достоверности экспериментальных результатов, обоснованности выводов и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ. Ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. - Биохимия.

Ведущий научный сотрудник
Лаборатории структурной биохимии белка
Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук,
д.б.н по специальности 03.01.04 – Биохимия

Н.А. Чеботарева

Подпись Н.А. Чеботаревой заверяю
Ученый секретарь Института Биохимии им. А.Н. Баха
ФИЦ «Биотехнологии» РАН

к.б.н. А.Ф. Орловский

Адрес: ФИЦ "Фундаментальные основы
биотехнологии" РАН,
119071, г. Москва, Ленинский пр. 33, стр. 2
Телефон +7 (495) 954-52-83
E-mail: n.a.chebotareva@gmail.com

