

## ОТЗЫВ

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

Малые белки теплового шока (sHsp) выполняют важнейшую антиэнтропийную функцию в клетках, поддерживая в рабочем состоянии многочисленные белковые структуры, производимые клеткой для обеспечения всех аспектов своей жизнедеятельности. В условиях сильного стресса, не обязательно теплового, приводящего к нарушению третичной и четвертичной структуры клеточных белков, sHsp предотвращают необратимую массовую агрегацию денатурированных белков за счет транзитного взаимодействия с их экспонированными гидрофобными областями. Впоследствии многие из этих белков возвращаются к нативной конформации с помощью системы АТФ-зависимого рефолдинга, что позволяет клетке восстановиться.

Для самих sHsp характерно формирование олигомеров и сложноорганизованных мультисубъединичных комплексов, включающих до 40 субъединиц. У человека обнаружено 10 генов, кодирующих sHsp. Их белковые продукты имеют сходное строение: в центральной области sHsp, расположен структурно консервативный  $\alpha$ -кристаллиновый домен (ACD), который соседствует с N- и C-концевыми доменами - NTD и CTD. Концевые домены sHsp могут сильно различаться по длине и структуре у разных представителей этого семейства.

Механизм образования мультисубъединичных комплексов, включающих различные sHsp, до конца не ясен. Считается, что олигомеризации sHsp инициируется антипараллельным связыванием ACD двух мономеров. Далее, димеры sHsp могут объединяться в тетрамеры/гексамеры за счет взаимодействия т.н. мотивов IxI в составе CTD одного из мономеров с ACD другого мономера. Наконец, в формировании олигомеров более высокого уровня участвуют последовательности из NTD sHsp. В NTD часто локализованы аминокислотные замены, связанные с патологическими мутациями в ряде генов sHsp человека, например, замены S10F и P20L в HspB6, ассоциированные с развитием кардиомиопатии. Таким образом, понимание механизмов участия NTD sHsp в формировании мультимерных структур этих белков и роли NTD во взаимодействии с белками-партнерами представляется крайне важным не только для полноценного описания молекулярных событий при нормальном

функционировании sHsp в клетках, но и в плане понимания молекулярных основ ряда наследственных патологий человека.

Диссертант достойно выполнил поставленные перед собой научные задачи. Он использовал широкий набор современных биохимических, биофизических и молекулярно-биологических методов. Результаты его исследований достоверны и воспроизводимы. Они согласуются с данными, полученными с использованием различных современных физико-химических методов исследования белков.

Основные итоги работы В.М. Шатова следующие.

Изучение олигомерной структуры ACD HspB1, HspB5, HspB6, HspB7 и HspB8 показало, что в отличие от принятого в литературе мнения о стабильности структуры димеров ACD sHsp для разных представителей этого семейства картина может отличаться. Так, в случае HspB1, HspB5 и HspB6 димеры их ACD находятся в равновесии с мономерами, а в случае HspB7 и HspB8 в растворе наблюдаются преимущественно мономерные ACD. Белок HspB8 даже в полноразмерной форме представлен в растворе в виде мономера. Продемонстрировано участие консервативного мотива sRLFDQxFG NTD sHsp в процессах гетероолигомеризации между HspB1, HspB5 и HspB6. Установлено, что аминокислотные замены S10F и P20L в N-концевом домене HspB6, коррелирующие с развитием кардиомиопатии, влияют на физико-химические свойства и шапероноподобную активность белка.

Практическая ценность работы состоит в разработанных автором оригинальных методах выделения ряда sHsp без стадии ренатурации, что позволяет более эффективно проводить научно-исследовательские работы с этими белками.

Основные результаты диссертационной работы получены впервые. Они опубликованы в 8 статьях в рейтинговых российских и международных научных журналах. В половине из этих публикаций диссертант является первым автором. В диссертационной работе сформулировано 5 выводов. Они адекватно отражают полученные результаты. Принципиальных замечаний по сути работы при прочтении автореферата не возникло.

По своей актуальности, научной и практической значимости диссертационная работа В.М. Шатова полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в пп. 9-10 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей

редакции), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия».

Главный научный сотрудник  
и.о. руководителя лаборатории клеточной подвижности  
Института экспериментальной кардиологии  
имени академика В.Н. Смирнова  
Национального медицинского исследовательского  
центра кардиологии имени академика Е.И. Чазова  
Минздрава России  
доктор биологических наук, профессор

В.П. Ширинский

Специальности: 14.00.06 Кардиология, 03.00.04 Биохимия  
Ширинский Владимир Павлович  
ул. Академика Чазова д. 15а, Москва 121552, Россия  
эл. почта: shirinsky@gmail.com  
тел.: 8495-414-7246

Подпись д.б.н., профессора В.П. Ширинского заверяю:  
Ученый секретарь ИЭК им. ак. В.Н. Смирнова  
НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова кардиологии  
Минздрава России  
доктор медицинских наук



О.С. Плеханова

02.02.2024