

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Кульбацкого Дмитрия Сергеевича «Структурно-функциональные исследования рекомбинантных аналогов белков человека SLURP-1 и SLURP-2», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 Молекулярная биология.

Автореферат Кульбацкого Дмитрия Сергеевича «Структурно-функциональные исследования рекомбинантных аналогов белков человека SLURP-1 и SLURP-2» затрагивает тему изучения биологических свойств эндогенных белков с недостаточно изученной функцией и значимостью для нормальной жизнедеятельности организма. Объектом внимания автора стали полипептиды семейства SLURP, которые относятся к семейству трехпетельных белков (по названию мотива пространственной укладки полипептидной цепи).

Данная работа представляет особый интерес в связи с сравнением двух белков одного семейства с гомологичной структурой (замечание - в автореферате не указан % гомологии), которые обладают разнонаправленной биологической активностью. SLURP-1 подавляет пролиферацию определенных типов клеток, а SLURP-2, наоборот увеличивает ее. Автор объясняет этот эффект, в том числе, более широкой специфичностью SLURP-2 к нескольким типам ацетилхолиновых рецепторов. Для обоих белков использовалась автором одинаковая методика поиска мишеней: определение мишеней в солюбилизированных мембранах мозга человека с помощью набора специфичных антител. Однако, судя по контрольному образцу, эксперименты с SLURP-1 и SLURP-2 отличаются друг от друга по каким-то параметрам, приводящим к заметной неспецифичности антител в случае SLURP-2, не наблюдающейся для SLURP-1. Неясно также, почему автор не использовал для скрининга возможной мишени образцы, которые содержали бы эпителиальные или иммунные клетки человека.

Эксперименты по определению структуры изучаемых полипептидов в растворе методом ЯМР спектроскопии позволили не просто подтвердить ожидаемый тип укладки полипептидной цепи, но также показали различие в динамике конформационных изменений различных петель исследуемых молекул. На основании полученных структурных и динамических данных автором было высказано предположение, что подвижные фрагменты молекул SLURP могут обеспечивать взаимодействие с несколькими сайтами на одном рецепторе или связываться с несколькими белками-мишенями. В разделе 2.6 этот вопрос был дополнительно исследован при моделировании связывания двух различных ацетилхолиновых рецепторов с полипептидом rSLURP-2.

В разделе 3.2, где используется конфокальная микроскопия для анализа колокализации меченого SLURP-1 с антителами к рецептору EGF, был сделан вывод, что EGFR не является основной мишенью полипептида. Это заявление на основании только приведенных в данном разделе данных представляется спорным, так как не было проведено окрашивание ацетилхолиновых рецепторов и EGFR в одном препарате, а значит вероятность совпадения локализации красителей, по-прежнему, может быть следствием уже установленного взаимодействия nAChR-SLURP. Можно рекомендовать использовать ранее использованный в данной работе метод с магнитными частицами для анализа этих клеточных культур, который позволит оценить уровень сродства EGFR к SLURP-1.

В автореферате почти нет опечаток, однако есть замечания к рисункам в тексте автореферата. Так, на рисунке 3 не ясно какая из записей относится к ингибирующему действию rSLURP1. На рисунке 4Б нет расшифровки значений по оси ординат. На рисунке 7А невозможно понять, действительно ли rSLURP2 ингибирует $\alpha\beta 2$ -nAChR с указанной константой – не построена

кривая, задаваемая уравнением Хилла с указанными в тексте параметрами. На рисунке 7Б также отсутствует расшифровка значений по оси ординат.

Помимо фундаментального интереса, данная работа имеет прикладное значение для поиска подходов к лечению некоторых типов онкологических заболеваний. Прежде всего это основано на том, что добавление экзогенного SLURP или возможно его модифицированного аналога приводит к уменьшению количества «вредного» никотинового рецептора и запускает экспрессию эндогенного пептида. К тому же автор уже обнаружил наличие «терапевтического окна» в действующих концентрациях SLURP между нормальными кератиноцитами и раковыми клетками.

Выводы, сделанные автором, обоснованы и отражают представленный экспериментальный материал. Предложенный в конце описания экспериментов механизм обратной связи в регуляции секреции SLURP-1 хорошо отражает полученные экспериментальные данные. Работа производит положительное впечатление, поставленные задачи выполнены. Представленный в автореферате материал позволяет заключить, что диссертация Кульбацкого Дмитрия Сергеевича «Структурно-функциональные исследования рекомбинантных аналогов белков человека SLURP-1 и SLURP-2», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - молекулярная биология, является законченным научным исследованием и соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.). Рекомендую присудить степень кандидата биологических наук Кульбацкому Дмитрию Сергеевичу.

28 марта 2019 г.

Заведующий
лабораторией нейрорецепторов
и нейрорегуляторов ИБХ РАН, д

Федеральное государственное бю
им. академиков М.М. Шемякина
Адрес: 117997, Российская Федер
Телефон: +7 (495) 336 4022
E-mail: serg@ibch.ru

Личную по
УДОСТОВ
ЗАВ. КАНЧ
"28" 0



Козлов Сергей Александрович/

Институт биоорганической химии
Российской академии наук (ИБХ РАН)
Улица Миклухо-Маклая, дом 16/10

