

Отзыв

на автореферат диссертации Ю.Б. Слонимского
«Механизм функционирования белка восстановления флуоресценции (FRP) в
регуляции фотозащиты у цианобактерий», представленной на соискание
ученой степени кандидат биологических наук
по специальности 1.5.4.-биохимия

Механизм фотозащиты у цианобактерий сложно устроен. При этом оранжевый каротеноид связывающий белок (orange carotenoid protein, OCP) взаимодействует с фикобилисомами и обеспечивает тепловую диссипацию энергии. Все это сопровождается значительными изменениями структур OCP и изменением спектра связанного с ним каротеноида. Самопроизвольный переход OCP из возбужденного в базовое невозбужденное состояние является достаточно медленным процессом, который может быть ускорен белком-партнером, так называемым белком восстановления флуоресценции (FRP, fluorescence recovery protein). Многие детали взаимодействия OCP и FRP оставались до последнего времени мало изученным. Кроме того, различные виды цианобактерий имеют в своем составе различные OCP, которые отличаются по способности взаимодействовать с FRP. Помимо этого, в геноме цианобактерий выявлено довольно большое количество белков, сходных по своей структуре свойствам с хорошо изученным FRP *Synechocystis* sp., при этом функциональная роль этих белков остается практически не изученной. Рецензируемая работа Ю.Б. Слонимского посвящена подробному анализу взаимодействия OCP с различными FRP и картированию участков взаимодействия этих белков.

В начале своей работы Ю.Б. Слонимский провел сравнение структуры и свойств FRP, полученных из разных цианобактерий и показал, что FRP из *Synechocystis* sp, *Anabaena variabilis* и *Arthrospira maxima* довольно сильно отличаются по аминокислотному составу, но при этом образуют сходные по размеру и структуре стабильные димеры. При этом FRP, полученные из разных видов цианобактерий, почти с равной эффективностью обеспечивала переход OCP из возбужденного в стационарное состояние. Логичным продолжением начатых исследований явилось подробное изучение механизма взаимодействия OCP и FRP. Для решения этой задачи диссертант получил транкированную форму OCP, лишенную первых двадцати аминокислотных остатков, а также мутантную форму OCP, содержащую близко расположенные в пространстве остатки цистеина, окисление которых приводило к «сшиванию» N-и C-концевых доменов OCP. Было проведено сравнительное исследование взаимодействия OCP дикого типа и двух его полученных мутантных форм с FRP. Оказалось, что делеция первых двадцати остатков OCP способствовала, а «сшивание» N- и C- концевых доменом OCP, наоборот, препятствовала его взаимодействию с FRP. На основе полученных

данных был сделан вывод, что в исходном состоянии N-концевой домен взаимодействует с С-концевым доменом и препятствует связыванию FRP. После возбуждения N-концевой домен диссоциирует от С-концевого домена, что делает возможным взаимодействие FRP с определенными участками в С-концевом домене OCP.

В своей дальнейшей работе Ю.Б. Слонимский постарался выяснить каково олигомерное состояние комплекса, образованного OCP и FRP. Для решения этой задачи диссертант получил две мутантных формы FRP. Одна из этих мутантных форм была способна образовывать сшитые дисульфидным мостиком стабильные димеры, а вторая мутантная форма, наоборот, несла в своем составе аминокислотную замену в области межмономерного интерфейса и поэтому не была способна образовывать стабильные димеры. Оказалось, что обе мутантные формы обладали заметно пониженной способностью реактивировать OCP. На основе полученных данных было сделано заключение, что, по всей видимости, OCP сначала взаимодействует с димером FRP, после чего становится возможной диссоциация димера FRP и образование комплекса OCP/FRP со стехиометрией, равной единице.

В завершение своей работы Ю.Б. Слонимский провел исследование OCP и FRP, синтезируемых в различных видах циано- и протеобактерий. Оказалось, что OCP из древней цианобактерии Gloeobacter способен реактивироваться без участия FRP, что обусловлено особенностями его структуры. Были получены кристаллы OCP Gloeobacter, проведено подробное сравнение структуры этого белка и OCP из Synechocystis и выявлены структурные особенности OCP Gloeobacter, препятствующие его продуктивному взаимодействию с FRP. Были получены несколько гомологов FRP из протеобактерий, исследована их олигомерная структура и установлено, что эти белки не участвуют в процессах, связанных с функционированием OCP.

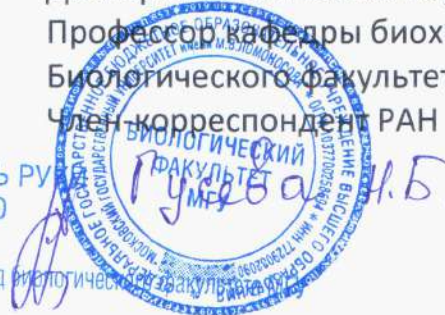
Завершая анализ автореферата Ю.Б. Слонимского можно заключить, что работа посвящена интересной и важной проблеме, выполнена на высоком уровне и содержит очень большой объем тщательно выполненных и подробно проанализированных оригинальных экспериментальных данных, отраженных в семи публикациях в высокорейтинговых журналах. Судя по автореферату, диссертационная работа Ю.Б. Слонимского в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Доктор биологических наук,
Профессор кафедры биохимии,
Биологического факультета МГУ,
Член-корреспондент РАН


Н.Б. Гусев

ПОДПИСЬ РУ
ЗАВЕРЯЮ

Документовед Биологический факультет МГУ



29.11.2024