

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Минеева Константина Сергеевича "Разработка методов ЯМР-спектроскопии и их применение для исследования олигомеризации мембранных белков", представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 "биоорганическая химия".

Диссертация Минеева К.С. посвящена развитию методов ЯМР-спектроскопии для изучения олигомеризации мембранных белков. Актуальность темы не вызывает сомнений - Олигомеризация является ключевым этапом функционирования многих белков, в том числе ионных каналов и клеточных рецепторов, вовлечённых в развитие социально-значимых заболеваний. При этом, спектроскопия ЯМР в растворе является перспективным методом для изучения структуры белков, однако ее применение на настоящий момент затруднено в силу ряда ограничений, в первую очередь связанных с размером объекта исследований.

В своей работе, Минеев К.С. предлагает новые подходы, непосредственно для изучения структуры и стабильности олигомеров мембранных белков в мембраноподобных средах. Автору удалось разработать методы исследования структуры частиц миметиков липидных мембран и применить их для изучения структуры "бицелл" различных составов. В результате было показано, что бицеллы действительно содержат участок липидного бислоя - важная информация, разрешающая споры, ведущиеся на протяжении последних 20 лет. При этом, Минеев К.С. обнаружил, что поведение липидных мембран во многом воспроизводится в бицеллах, что позволило применить бицеллы для исследования влияния липидного состава окружения на структуру и стабильность олигомеров мембранных белков. В работе предлагаются новые составы "бицелл" с улучшенными свойствами, для изучения крупных мембранных белков, содержащих водорастворимые части. Минеев К.С. предлагает несколько подходов к установлению пространственной структуры димеров мембранных белков. Применение этих методик привело к определению более 10 новых пространственных структур белков, анализ которых выявил ряд важных закономерностей фолдинга  $\alpha$ -спиральных мембранных доменов, а также позволил выдвинуть несколько гипотез о механизмах активации клеточных рецепторов с одним трансмембранным сегментом различных классов. Автор предложил методы и для измерения свободной энергии димеризации/олигомеризации белков в мембраноподобных средах в различных типах. Это позволяет анализировать поведение белков на более сложном уровне, сопоставляя структуру и энергию для каждой из конформаций, выявлять основные движущие факторы взаимодействия между белками в мембранах, объяснять механизм действия патогенных мутаций в трансмембранных доменах белков.

Наконец, Минеев К.С. совершил попытку выйти за общепринятые границы применимости ЯМР-спектроскопии и использовать разработанные методики для изучения крупных фрагментов мембранных белков массой свыше 25 кДа в массивных частицах мембраноподобных сред, и ему удалось добиться очевидного успеха. На примере нескольких объектов автор убедительно показывает, что исследование двухдоменных и более крупных конструкций на основе мембранных белков позволяет получить новую, недоступную ранее, информацию об их структурной организации и функционально-значимой подвижности.

Работа выполнена на высочайшем научном, техническом и методическом уровне, материал опубликован в значительном количестве статей в международных рецензируемых

журналах, представлен на нескольких престижных международных конгрессах. Автореферат написан логично и доступным языком и красочно иллюстрирован. Всего в списке публикаций указано 23 работы, большая часть из которых вышла в известных журналах, таких как Structure, J.Biol. Chem, J. Mol. Biol., BBA-Biomembranes, Chemical Science. Важно отметить, что в большинстве работ Минеев К.С. по праву занимает место первого автора, как основной исполнитель, или же последнего автора, как руководитель исследования. Значимость результатов, полученных Минеевым К.С. переоценить сложно. Диссертацию можно рассматривать как методологический фундамент для исследования взаимодействия белков в мембранах. Представленная работа открывает дорогу для изучения структуры, динамики и термодинамических параметров новых классов объектов при помощи ЯМР-спектроскопии в растворе мембраноподобных сред, наиболее адекватно воспроизводящих свойства мембранного окружения.

Диссертация К.С. Минеева заслуживает самой высокой оценки, автореферат полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к авторефератам диссертаций, представляемых на соискание ученой степени доктора наук, а сам автор, безусловно, заслуживает присуждения ему степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 "биоорганическая химия".


доктор химических наук, доцент,  
зав. кафедрой Биофизики Физтех-школы  
физики и исследований им. Ландау МФТИ (ГУ)

 /Чупин В.В.

"\_\_" февраля 2020 года

Кафедра Биофизика  
Факультет Общей и прикладной Физики  
Московский Физико-Технический Институт (Государственный Университет)  
141700, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., д.9  
телефон: 8 495 408 79 74  
e-mail: vvchipin@gmail.com



подпись руки   
ПРИЯЮ:  
ДУЮЩАЯ КАНЦЕЛЯРИЕЙ  
МИНИСТРАТИВНОГО ОТДЕЛА  
  
М.А. ГУСЕВА