

О Т З Ы В

на автореферат диссертации **Куджаева Арсена Мизамудиновича** на тему **«Участие уникального инсерционного домена АТР-зависимой Lon-протеазы из *Escherichia coli* в формировании активной структуры и функционировании фермента»**, представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия

Система контроля качества (СКК) клеточного протеома, сформированная молекулярными шаперонами и энергозависимыми протеазами, играет ключевую роль в преодолении клеткой негативных последствий, возникающих в результате стрессовых ситуаций. Объектом исследования в диссертационной работе А.М. Куджаева явился один из важнейших представителей СКК – АТР-зависимая Lon-протеаза из *Escherichia coli* (Ec-Lon), которая осуществляет селективную деградацию большого числа аномальных и поврежденных, а также регуляторных белков, обеспечивая тем самым сохранность протеома. Несмотря на наличие значительного объема сведений об этом ферменте, ряд вопросов участия его N-концевой области в формировании активной структуры и проявлении энзиматических свойств, оставались нерешенными. В связи с этим представленную к защите работу, целями которой явились проверка гипотезы о двухдоменной организации N-концевой области Ec-Lon и структурно-функциональное исследование уникального инсерционного домена фермента следует рассматривать как своевременную и актуальную.

Автором был проведен структурный анализ N-концевой области Ec-Lon-протеазы, основанный на данных РСА для ряда фрагментов фермента, включая центральный фрагмент (235-584), структура которого была установлена в рамках диссертационной работы. Показано, что этот фрагмент формирует открытые гексамерные спиральные кольца, факт формирования которых подтвержден структурой мутанта полноразмерной Ec-Lon-протеазы, полученной с помощью криоэлектронной микроскопии. Обнаружение структурного подобия инсерционного домена Ec-Lon и α -спирализованного домена первого АТР-азного модуля шаперонов ClpB, а также нуклеотидсвязывающих доменов Ec-Lon и ClpB послужило убедительным подтверждением выдвинутой ранее гипотезы о протеазах семейства LonA как об особом подклассе AAA+-белков.

Для характеристики энзиматических свойств доменов N-концевой области диссертантом был получен и исследован ряд модифицированных форм Ec-Lon-протеазы. Показано, что инсерционному домену Ec-Lon принадлежит определяющая роль в реализации процессивного механизма гидролиза белкового субстрата. Кроме того, продемонстрирована важность этого домена для олигомеризации фермента и осуществления аллостерических межцентровых взаимодействий. Установлено, что N-

концевой домен обеспечивает конформационную стабильность Ес-Lon-протеазы в условиях сопряжения протеолиза с гидролизом АТР. Показано также, что N-концевая область не является существенной для связывания ДНК Ес-Lon-протеазой.

Таким образом, Куджаев А.М. успешно решил поставленные в работе задачи. В ходе исследования автором проделан большой объем экспериментальной работы, выполненной на высоком профессиональном уровне с привлечением современных методов белковой химии и молекулярной биологии, что характеризует диссертанта как высококвалифицированного специалиста. Полученные автором данные являются достоверными, а сделанные выводы – аргументированными и логичными.

Материалы диссертационной работы опубликованы в виде 8 статей в отечественных и в зарубежных научных журналах, а также апробированы на российских научных мероприятиях.

В качестве замечаний по автореферату можно отметить, что на представленных графиках не отображены погрешности измерений, а также не ясно, уравнивались ли молярные концентрации Ес-Lon-протеазы и химотрипсина при сравнении протеолитической активности этих ферментов. Однако эти замечания не снижают общей высокой оценки работы.

Диссертация Арсена Мизамудиновича Куджаева является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решены все поставленные задачи. Она полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в «Положении о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (п. 9-14). Сам автор, Куджаев А.М., заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Научно-исследовательского института
физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского
Московского государственного университета
имени М.В.Ломоносова

Эллидина

Эллидина Е.Н.

Почтовый адрес:
Москва 119991
Ленинские горы д.1, стр. 40, к.235
Тел. +7 495 939 5551, моб. +7 926 386 3204
E-mail: elp@belozersky.msu.ru

26 октября 2020 г.

ПОДПИСЬ
УДОСТОВЕРЯЮ
ЗАВ.КАНЦЕЛЯРИЕЙ
И.И. СИДОРОВА

