

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Галины Сергеевны Нагибиной  
«Метод стабилизации структуры белков, основанный на определении и закреплении их  
«ослабленных» участков», представленной на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Современная наука обладает большим запасом данных о структурной стабильности белков и влиянию на нее различных аминокислотных остатков. Однако, несмотря на большое количество работ, посвященных изучению структуры и стабильности белков, вопрос о возможности направленного изменения стабильности остается открытым. Данное направление исследований становится все более важным в свете решения большого количества биотехнологических задач. В этой связи, работа Г.С. Нагибиной, посвященная разработке подхода, позволяющего повысить стабильность структуры белка на примере трех белков, несомненно, актуальна.

Автором был получен ряд рекомбинантных белков с тщательно выбранными точечными аминокислотными заменами, и их свойства охарактеризованы в сравнении с белками дикого типа. Используя широкий спектр методов исследования физико-химических свойств белков было показано, что мутагенез исследованных белков вызвал увеличение стабильности белков при введении дисульфидных связей в области белка, предсказанные, по разработанному автором подходу, как «ослабленные». Автор основательно подошла к вопросу поиска «ослабленных» участков белков и применила впечатляющий арсенал методов изучения структуры и стабильности белков. Это характеризует автора как всестороннего и опытного экспериментатора.

В работе показано, что закрепление дисульфидной связью предсказанного «ослабленным» участков белков Gao и HmaL1 приводит к повышению стабильности их структур на 4-10°C при тепловой денатурации. В то время как введение дисульфидного моста в область, предсказанную как «не ослабленная» в белке AaeL1, никак не повлияло на стабильность. На основе анализа аминокислотных последовательностей с помощью программ PONDR-FIT и IsUnstruct и полученных данных автор предложила подход для предсказания «ослабленных» участков белков, стабилизация которых может повлиять на стабильность структуры белка в целом.

В ходе прочтения автореферата возникает несколько вопросов:

1. В работе в калориметрических и флуоресцентных исследованиях использовались в качестве буфера Трис и бисин. Однако данные буферы обладают существенным изменением рН в зависимости от температуры. Так в случае с денатурацией Gao рН в ходе нагрева снизится на 1, а в случае денатурации HmaL1 на 2.5 единицы рН. Такое сильное изменение рН может само оказать негативное воздействие на исследованные белки.
2. Необычными являются и условия денатурации белка AaeL1. Обычно, при исследовании стабильности белков применяется либо химическая денатурация (например мочевиной), либо тепловая денатурация. В работе была проведена тепловая денатурация в присутствии 4 М мочевины. В чем причина таких необычных условий эксперимента?

Проделанная работа осуществлена на высшем мировом уровне, а заданные автору вопросы ни в коей мере не снижают ее достоинств и носят дискуссионный характер. Данная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатской диссертации, а ее автор, Г.С. Нагибина, заслуживает присвоения искомой степени.

к.б.н. (биохимия, 03.01.04),  
Алексей Сергеевич Казаков



«08» октября 2020 г.

Старший научный сотрудник  
Лаборатории новых методов в биологии,  
Института биологического приборостроения  
с опытным производством Российской академии наук –  
обособленного подразделения ФГБУН «ФИЦ ПНЦБИ РАН»  
142290, г. Пущино, ул. Институтская, д. 7  
e-mail: fenixfly@yandex.ru  
тел. +7(903) 230-10-27

*Подпись удостоверяю*

*Ст. инспектор по кадрам*

