

Заключение комиссии
по диссертации Шенкарева Захара Олеговича
на тему «Структурно-функциональное состояние мембранных белков и мембраноактивных пептидов по данным ЯМР-спектроскопии» на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 03.01.02 – «биофизика»

Комиссия диссертационного совета Д 501.001.96 в составе д.б.н. проф. Максимова Г.В., д.б.н. в.н.с. Нокса П.П. и д.ф.-м.н. проф. Шайтана К.В. рассмотрела текст диссертации, основные публикации и проект автореферата.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, научный консультант д.х.н. проф. Арсеньев А.С.

Диссертационная работа посвящена изучению принципов структурной организации и механизмов функционирования мембраноактивных пептидов (МП) и интегральных спиральных мембранных белков (МБ) методами ЯМР-спектроскопии высокого разрешения.

Диссертация соответствует профилю совета. Основные материалы диссертации опубликованы. Всего автором опубликовано 63 работы, из них в рецензируемых российских и иностранных журналах, входящих в перечень ВАК – 23; глав из книг – 1; патентов – 3; тезисов докладов на научных конференциях – 36.

Диссертационная работа Шенкарева З.О. выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровне. Достоверность и обоснованность полученных результатов, проведенных расчетов, методов анализа и выводов не вызывает сомнений. Предложенные автором новые решения строго аргументированы и критически оценены по сравнению с другими известными решениями. Выводы конкретны и полностью отражают результаты, обладающие несомненной новизной. В работе вперые:

- Разработана методология применения новой мембраномоделирующей среды, – липид-белковых нанодисков, для структурно-динамических ЯМР-исследований МБ и МП.
- Разработан новый метод ренатурации (фолдинга) рекомбинантных МБ в средах на основе нанодисков.
- В средах, моделирующих биологическую мембрану, исследована пространственная структура и внутримолекулярная динамика десяти МП, принадлежащих трем классам: гидрофобные антибиотики (лантибиотики Lch α и Lch β , пептаиболы Aam-I и Zrv-III), антимикробные пептиды (циклотиды KB1 и KB7, ареницин-2 и аурелин) и нейротоксины (VSTx1 и NTII). Изучена роль различных взаимодействий и конформационной подвижности молекул МП в образовании комплексов пептид-мембрана.
- На примере Aam-I и Zrv-III показано, что повышенная конформационная подвижность может значительно ослаблять активность спиральных каналобразующих антибиотиков.
- В мембраноподобном окружении определена пространственная структура димера β -структурного МП ареницина-2. Показано, что конформация и динамика β -структурных МП может значительно меняться при взаимодействии с мембраной.
- Предложены механизмы образования пептид-пептидных и пептид-липидных пор в мембране антибиотическими мембраноактивными пептидами с разным типом пространственной укладки (спиральные Aam I/Zrv-III и β -структурный ареницин 2).
- В молекулах циклотидов KB1 и KB7 обнаружены и охарактеризованы сайты связывания двухвалентных катионов, важные для мембранной и антибиотической активности.
- Предложена модель антибиотического действия двухкомпонентного лантибиотика Lch α /Lch β , включающая взаимодействие с молекулой-мишенью, – липидом II.
- Показано, что аурелин одновременно обладает свойствами антимикробного МП, неспецифически разрушающего мембраны, и специфического токсина, блокирующего K⁺-каналы.
- Охарактеризована динамика «нативного» состояния потенциалочувствительного домена K⁺-канала KvAP (ПЧД). Обнаружены «медленные» (мс-мс) межспиральные движения, – предшественники конформационных перестроек, происходящих при потенциалозависимой активации.
- Обнаружено состояние ПЧД, сходное с состоянием «расплавленной глобулы» водорастворимых белков и являющееся одним из возможных интермедиатов процесса фолдинга МБ *in vitro*. Показано, что в отличие от водорастворимых белков фолдинг МБ может сопровождаться одновременным увеличением энтальпии и энтропии системы.

- В мембраноподобном окружении исследованы структурные аспекты взаимодействия ПЧД с токсином VSTx1, влияющим на потенциалозависимую активацию. Предложен молекулярный механизм действия токсина.

Диссертационная работа Шенкарева З.О. посвящена актуальной научной проблеме, имеет высокую теоретическую и практическую ценность и соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям.

Комиссия считает, что диссертация может быть представлена к защите на совете по биофизике (специальность - 03.01.02).

В качестве официальных оппонентов рекомендуются:

доктор физико-математических наук, Кутышенко Виктор Павлович, профессор, заведующий лабораторией ЯМР-исследований биосистем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук (ИТЭБ РАН) г. Пущино, специалист в области биофизики и ЯМР-спектроскопии белков и пептидов.

доктор биологических наук, Веселовский Александр Владимирович, заведующий лабораторией Структурной биоинформатики отдела Биоинформатики Федерального государственного бюджетного учреждения "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича" (ИБМХ РАН) , г. Москва, специалист в области структурной биологии, конформационного анализа и молекулярного моделирования белков.

доктор химических наук, Каплун Александр Петрович, профессор кафедры органической химии Московского государственного университета тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова (МИТХТ), г. Москва, специалист в области биофизики и химии липид-содержащих наночастиц.

На официальный отзыв диссертацию направить в Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов» (РУДН), г. Москва.

Члены комиссии:

д.б.н., проф. Максимов Г.В.,

д.б.н., в.н.с. Нокс П.П.,

д.ф-м.н., проф. Шайтан К.В.