

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Шевченко Ульяны Владимировны «Актин запирающей мышцы мидии *Crenomytilus grayanus*: особенности очистки и взаимодействия с тропомиозином и миородом», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Диссертация Шевченко Ульяны Владимировны посвящена разработке методики выделения и очистки актина запирающей мышцы мидии *C. grayanus* и исследованию особенностей взаимодействия актина с тропомиозином и миородом в гибридных и негибридных сократительных системах *in vitro*. Использование таких модельных сократительных систем является классическим подходом для исследования функциональных свойств различных сократительных мышечных белков *in vitro*. До сих пор исследование феномена catch-механизма сокращения запирающих мышц моллюска проводится преимущественно на гибридных системах, включающих белки, выделенные из гладкой мышцы моллюска и скелетной мышцы кролика (актин). Поэтому разработка негибридной тестовой системы, позволяющей корректно моделировать взаимодействие сократительных белков в запирающей мышце моллюсков и сопоставлять полученные результаты с данными, полученными на гибридных системах, является, несомненно, важной и актуальной задачей.

Исследование проведено с использованием классических подходов по выделению белков из гладких мышц мидии и из скелетных мышц кролика, с контролем получаемых белковых смесей с помощью полиакриламидного гель-электрофореза, а также с помощью электронной микроскопии. Автором была впервые разработана методика получения глобулярной формы актина мидии *C. grayanus*, включающая создание условий по диссоциации поверхностных белков тонкой нити, обработку фракций тонкой нити раствором с высокой ионной силой в присутствии АТФ и пироглутамата натрия с последующим высокоскоростным осаждением. Помимо этого глобулярный актин из гладкой мышцы моллюска впервые был очищен при помощи гель-фильтрации, что позволило предположить наличие фактора, влияющего на кинетику полимеризации на вязкость этого актина.

Впервые было проведено сравнение физико-химических свойств актина из гладкой мышцы беспозвоночных с актином скелетной мышцы кролика. Было продемонстрировано сходство их основных физических и биохимических параметров, но при этом выявлено выраженное отличие в вязкости. Это показывает, что для получения корректных результатов при реконструкции толстых и тонких нитей для изучения catch-механизма, нельзя проводить замену саркомерных мышечных белков на ненативные, т.е.

использовать гибридную систему. Помимо этого, используя разработанную негибридную систему, было показано, что фосфорилирование белка миорода – одного из потенциальных регуляторов запирающего тонуса гладкой мышцы моллюска, является одним из механизмов, регулирующим взаимодействие между синтетическими тонкими и толстыми нитями.

Автор предположил, что значительные различия в вязкости между актинами, выделенными из мышцы моллюска и кролика могут быть связаны с длиной полимеров актина, регулируемой белками концевых факторов. К сожалению, автор не провел работу по выявлению этих белков с помощью масс-спектрометрического анализа (хотя эта методика использовалась в работе и упоминалась в автореферате). Это замечание не является принципиальными и скорее должно рассматриваться как пожелание на будущее.

Представленные в автореферате результаты ясно изложены и полно отражают результаты, полученные в работе. Результаты исследований отражены в 3 статьях, две из которых напечатаны в высокорейтинговых международных журналах рекомендованных ВАК РФ. Таким образом, совокупность полученных фактов, их новизна, уровень теоретического анализа позволяет сделать вывод о том, что диссертация Шевченко У.В. «Актин запирающей мышцы мидии *Crenomytilus grayanus*: особенности очистки и взаимодействия с тропомиозином и миородом» является законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. № 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология».

В.н.с.-зав.лаб., Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Государственного  
научного центра Российской Федерации  
Института медико-биологических проблем  
Российской академии наук (ГНЦ РФ ИМБП РАН),  
д.б.н., специальность физиология (03.03.01)  
123007 Москва, Хорошевское ш., 76А  
danil-popov@yandex.ru

[Redacted signature]

Попов  
Даниил Викторович  
15.09.2020

Подпись удостоверяю  
Ученый секретарь ГНЦ РФ ИМБП РАН



[Redacted signature]

Левинских М.А.