

ОТЗЫВ

официального оппонента
на диссертационную работу Богданова Ивана Владимировича
«Новые липид-транспортующие белки растений семейства *Fabaceae*»,
представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия

В связи с тем, что число аллергических заболеваний резко возросло в последние годы, поиск, выделение и характеристика новых аллергенных белков становится одной из важнейших задач биоорганической химии, а также фундаментальной и прикладной медицины. Одним из наиболее клинически важных классов белков, участвующих в развитии аллергических реакций на растительные пищевые продукты, латекс и пыльцу, являются липид-транспортующие белки (LTP). Эти небольшие белки, имеющие повышенную устойчивость к деградации ферментами пищеварительного тракта, широко распространены в царстве растений. Всестороннее изучение новых аллергенов, принадлежащих к классу LTP, а также разработка биотехнологических способов получения их рекомбинантных аналогов открывают возможности их использования при создании диагностических тест-систем нового поколения для компонентной алергодиагностики, а также вакцин на основе гипоаллергенных форм LTP для проведения превентивной аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ). Кроме этого, биологическая роль LTP в растениях пока продолжает оставаться предметом дискуссий. Указанные обстоятельства доказывают важность и необходимость разработки методов выделения и структурно-функциональных исследований новых растительных липид-транспортующих белков.

В диссертационной работе Богданова Ивана Владимировича был проведён поиск новых липид-транспортующих белков, разработаны методы выделения и очистки ряда LTP, были определены полные нуклеотидные последовательности кДНК, кодирующих белки-предшественники новых LTP, и соответствующие им аминокислотные последовательности, определены уровни экспрессии генов исследуемых белков в различных органах растения и на разных стадиях его онтогенетического развития, созданы системы для гетерологичной экспрессии липид-транспортующих белков, отработаны методики получения рекомбинантных LTP и их аналогов, меченных стабильными

изотопами, и, наконец, проведена структурно-функциональная и иммунологическая характеристика выделенных белков. Таким образом, внесён существенный вклад в развитие аллергологии и иммунологии.

Диссертационная работа написана по традиционной форме и включает в себя введение, обзор литературы, экспериментальную часть, обсуждение результатов, выводы, библиографический список (201 наименование) и список сокращений. Работа изложена на 128 страницах, иллюстрирована 30 рисунками и 2 таблицами. Литературный обзор посвящен обобщению последних имеющихся в научной литературе данных по структурно-функциональной и иммунологической характеристике растительных липид-транспортирующих белков, а также касается прикладных аспектов возможного применения данных белков в новых перспективных подходах аллергодиагностики и иммунотерапии.

В разделе «Материалы и методы» перечислены использованные диссертантом в работе подходы и методики. В ходе выполнения диссертации автор использовал широкий спектр физико-химических и иммунологических методов, а также методов молекулярной биологии, генной инженерии, микробиологии и биотехнологии. Все это свидетельствует о высоком методическом уровне представленной работы, а Богданова И.В. характеризует как квалифицированного специалиста, владеющего широким арсеналом методов.

Результаты диссертационной работы представлены в соответствующем разделе. Из наиболее значимых результатов можно выделить следующие. Важный практический результат был достигнут диссертантом в результате выделения нового аллергена из семян гороха *Pisum sativum* и его регистрации в базе данных по аллергенам Международного союза иммунологических обществ (WHO/IUIS) под аббревиатурой Pis s 3, который стал третьим пищевым аллергеном гороха после вицилина и конвицилина. Вместе с этим, были подробно изучены структурно-функциональные и иммунологические свойства данного белка, включающие в себя изучение антимикробной и липид-связывающей активностей, а также способности переносить липиды между мембранами *in vitro* и разрушать искусственные липосомы. Также в семенах гороха были также обнаружены мРНК, кодирующие два других ЛТР. Профили дифференциальной экспрессии генов всех трех обнаруженных липид-транспортирующих белков были исследованы в различных органах растения и на разных стадиях его онтогенетического развития. Еще одним

принципиально важным практическим результатом работы Ивана Владимировича является разработка биотехнологических методов получения аллергена гороха Pis s 3 и его рекомбинантного аналога, тотально меченного стабильными изотопами ^{13}C и ^{15}N , необходимого для определения его пространственной структуры в растворе методом ЯМР-спектроскопии. Благодаря установленной методом гетероядерной ЯМР-спектроскопии пространственной структуре данного белка впервые для растительных LTP выявлена конформационная гетерогенность пептида в водном растворе. Значимым результатом также явилось сравнительное исследование свойств новых изоформ (Lc-LTP1 и Lc-LTP3) пищевого аллергена чечевицы обыкновенной Lep s 3. Были показаны менее выраженные аллергенные свойства изоформы Lc-LTP3 по сравнению с Lep s 3.

Принципиальных замечаний по научному содержанию диссертационной работы Богданова И.В. у меня нет, однако, хотелось бы получить уточнение по одному вопросу. Автор высказывает предположение о том, что у растительных липид-транспортирующих белков некоторые аминокислоты могут играть роль как в связывании с липидами, так и в связывании с антителами. Ранее в научной литературе не было показано, что одни и те же аминокислоты могут участвовать в образовании разных центров связывания у данных белков. Планируется ли автором экспериментальная работа с целью проверить это предположение? Кроме этого, в работе есть несколько незначительных опечаток, однако высказанные замечания не носят принципиального характера, не умаляют работы и не снижают общего положительного впечатления от работы Богданова И.В., которая, безусловно, удовлетворяет требованиям "Положения о присуждении учёных степеней", предъявляемым к кандидатским диссертациям.

В целом, диссертационная работа выполнена на высоком экспериментальном уровне, обладает теоретической и практической значимостью. Указанная работа расширяет ассортимент известных к настоящему моменту пищевых аллергенов и вносит вклад в изучение структуры и свойств растительных липид-транспортирующих белков. Сделанные выводы точно соответствуют полученным в диссертации экспериментальным данным. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Результаты работы Богданова И.В. опубликованы в 4 статьях в рецензируемых научных журналах, которые включены в перечень журналов

и изданий, утвержденных Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, 28 работ опубликовано в материалах всероссийских и международных конференций и конгрессов, также имеются 2 заявки на патент РФ. Диссертационная работа Богданова Ивана Владимировича соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении учёных степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335 в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 N 748), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия.

Официальный оппонент
заведующий отделом нанобиотехнологии
Всероссийского научного центра
молекулярной диагностики и лечения

член-корреспондент РАН,
д.х.н., профессор

Северин Евгений Сергеевич

Адрес: 117638, г.Москва, Симферопольский бульвар, 8
Телефон: 8(495)776-31-17
E-mail: e.severin@mail.ru

Подпись д.х.н. Северина Е.С.

«удостоверяю».

Ученый секретарь ОАО ВНЦМДЛ

к.т.н. Е.Е. Зотова

М.П.

