

## **ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт белка Российской академии наук  
(ИБ РАН)

ул. Институтская, д. 4, г. Пущино, Московская обл., 142290  
Тел./факс +7(495)514-02-18; факс +7(4967)318-435 E-mail:  
protres@vega.protres.ru  
ОКПО 02699748, ОГРН 1025007773262, ИНН/КПП  
5039001220/503901001

### **Отзыв**

**официального оппонента на диссертационную работу  
Петра Борисовича Опарина « $\alpha$ -Гарпинины – защитные  
пептиды растений», представленную на соискание ученой  
степени кандидата химических наук по  
специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия**

Для выживания в условиях неблагоприятных внешних воздействий растения выработали сложную систему защиты, основанную на использовании различных веществ, в том числе защитных пептидов, антимикробных пептидов, ингибиторов протеаз и амилаз и т.п. Эти вещества пептидной природы обладают широким спектром действия, имеют разнообразные функции и относительно небольшие размеры, что делает их очень удобным объектом для изучения взаимосвязи между структурой и функцией. В этом состоит научная значимость данной работы. С другой стороны, эти пептиды очень перспективны для использования в сельскохозяйственной биотехнологии, например, для получения трансгенных культур с повышенной устойчивостью к различным патогенам, а также в медицине в качестве антимикробных агентов.

Диссертация написана по традиционной схеме и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы и список литературы. Основные результаты по теме диссертации опубликованы в 4-х статьях в научных журналах, включенных в перечень ВАК, докладывались на всероссийских и международных научных конференциях.

Тема литературного обзора непосредственно связана с темой диссертационной работы. В нем представлена современная классификация защитных и антимикробных пептидов растений, ингибиторов  $\alpha$ -амилаз и ингибиторов протеаз, достаточно подробно даны их функциональные и структурные характеристики.

Раздел «Материалы и методы» содержит подробное описание всех использованных в работе методов и программного обеспечения. Следует отметить, что количество освоенных и использованных в работе автором методов и методик впечатляет.

Основные результаты работы представлены в разделе «Результаты и их обсуждение». Отметим наиболее важные из них. Автором сделан основной вклад в выделение, очистку и определение аминокислотной последовательности нового ингибитора сериновых протеаз из семян гречихи. Было установлено, что он представляет собой пептид из 41 аминокислотного остатка, четыре из которых являются остатками цистеина, образующих два SS-мостика. В результате сравнительного анализа первичных, вторичных и третичных структур было установлено существование нового семейства защитных пептидов растений, получивших название  $\alpha$ -гарпинины из-за наличия в них характерной структуры в виде  $\alpha$ -шпильки. Получен ряд рекомбинантных аналогов  $\alpha$ -гарпининов и проведено исследование их структурных и функциональных свойств. Автором проведено исследование активности данных пептидов в отношении ряда фитопатогенных грибов и протеолитических ферментов. Проведен дизайн и синтез нескольких производных  $\alpha$ -гарпининов для того, чтобы выявить минимальный фрагмент,

обладающий активностью. На основании сходства третичных структур  $\alpha$ -гарпининов и некоторых белков из яда скорпионов сконструирован химерный пептид, специфично ингибирующий калиевые каналы человека.

В целом, диссертационная работа П.Б.Опарина производит хорошее впечатление как по объему выполненных исследований, так и по полученным результатам. Необходимо отметить, что работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, а автор проявил себя как специалист высшей квалификации. Основные положения и выводы диссертации в достаточной степени обоснованы. Автореферат написан достаточно подробно и адекватно передает содержание работы. Результаты работы интересны и будут полезны многим специалистам в области биоорганической химии, молекулярной биологии и биотехнологии.

У меня нет принципиальных замечаний по научному содержанию работы. Однако хотелось бы поделиться своими наблюдениями по структуре исследуемых  $\alpha$ -гарпининов, которые, возможно, не замечены автором. Так, если в составе пары соседних по цепи  $\alpha$ -спиралей обе спирали достаточно длинные (3,5-4 витка и более), то в белках они, как правило, образуют  $\alpha$ -спиральные шпильки. Если одна спираль из двух или обе имеют длину не более 2,5-3 витков, то они обычно упаковываются крестообразно, вплоть до образования ортогональной упаковки, как, например, в ДНК-связывающих и  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих белках, а также в других  $\alpha\alpha$ -уголках. На мой взгляд,  $\alpha\alpha$ -шпильки и  $\alpha\alpha$ -уголки – это различные структуры из двух  $\alpha$ -спиралей, и объединять их в одну группу не совсем корректно.

Основное замечание по оформлению диссертации касается списка литературы, -- он составлен не по принятым стандартам. Следует отметить, что диссертация и автореферат написаны хорошим языком и практически без ошибок. Перечень небольшого количества замеченных опечаток передан автору.

Принимая во внимание изложенное выше, считаю, диссертационная работа П.Б.Опарина соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке

присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением  
Правительства РФ от 24.09.2013 №842), а сам П.Б.Опарин заслуживает  
присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности  
02.00.10 – Биоорганическая химия.

Зав. группой моделирования белковых  
структур ФГБУН Института белка РАН,  
доктор химических наук

А.В.Ефимов

5 июня 2014 г.

