

Отзыв на автореферат диссертационной работы
Кругловой Натальи Андреевны
на тему: «Участие ассоциированного с фосфатазой лимфоцитарного
фосфопротеина (LPAP) в процессах активации Т-клеток», представленной на
соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.03 – «Иммунология»

Диссертационная работы Кругловой Н.А. посвящена изучению вклада белка LPAP в процесс активации Т-клеток. Несмотря на то, что белок LPAP был обнаружен довольно давно, его функция неизвестна. Поскольку LPAP образует комплекс с фосфатазой CD45, одним из ключевых регуляторов активации лимфоцитов, выдвигается предположение о том, что LPAP участвует в этом процессе. Изучение функциональных особенностей белка LPAP поможет раскрыть молекулярные детали регуляции CD45 и активации лимфоцитов в целом, что, несомненно, является актуальной научной задачей.

В первую очередь, диссертантом детально исследовано фосфорилирование белка LPAP в условиях активации Т-клеток. Обнаружено, что в активированных клетках белок LPAP фосфорилируется по ранее не описанному сайту Ser-163. Для идентификации и подтверждения природы этого сайта автор использует три независимых метода: масс-спектрометрический анализ, сайт-направленный мутагенез, а также получение фосфоспецифических моноклональных антител. Автор показал, что при активации лимфоцитов происходит быстрое дефосфорилирование LPAP по Ser-172, частичное дефосфорилирование по Ser-99 и более медленное фосфорилирование по Ser-163, а фосфорилирование сайта Ser-153 при активации сохраняется. Для идентификации киназ, ответственных за наблюдаемые изменения, диссертантом использована панель ингибиторов против основных участников сигнального каскада лимфоцитов. Установлено, что киназа ERK1/2 способна фосфорилировать LPAP по Ser-163, что подтвердил *in vitro* киназный тест с рекомбинантной киназой ERK1.

Вторая часть работы посвящена поиску белков, взаимодействующих с LPAP. Для этого автор применил несколько протеомных методов и подтвердил взаимодействие LPAP с фосфатазой CD45, однако не выявил дополнительных надежных партнеров. Наконец, в работе изучена функциональная связь между LPAP и CD45, а именно взаимосвязь экспрессии этих белков. С этой целью автором получены необходимые инструменты: панель клеточных линий, нокаутных по LPAP, и линий с различным уровнем этого белка. Обнаружена корреляция между уровнями LPAP и CD45.

Выдвигается гипотеза о том, что функция LPAР в клетке состоит в регуляции уровня CD45.

Работа выполнена на высоком методическом уровне. Особо стоит отметить применение таких методов, как технологию геномного редактирования CRISPR/Cas9 и новый метод получения нокаутов SOTRS, разнообразные электрофоретические методы, а также получение фосфо-специфических моноклональных антител. Материал в автореферате описан логично и последовательно, выводы соответствуют поставленным задачам.

О новизне и ценности работы свидетельствует то, что ее результаты опубликованы в 4 статьях в рецензируемых научных журналах.

Автореферат диссертации Кругловой Натальи Андреевны удовлетворяет требованиям, установленным в Положении о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.03 – «Иммунология».

Нарыжный Станислав Николаевич
д.б.н., заведующий лабораторией Протеомики отделения Молекулярной и
Радиационной Биофизики НИЦ «Курчатовский институт» -ПИЯФ

тел.:

e-mail:

14 Октября 2019 г

Подпись Нарыжного С.Н. удостоверяю:

НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА
КАДРОВ
ЗИНОВЬЕВА А.Н.
«14» СЕНТЯБРЯ 2019

