

ОТЗЫВ

на диссертацию Нижникова Антона Александровича на тему: «ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И ДЕЙСТВИЯ КОНФОРМАЦИОННЫХ БЕЛКОВЫХ МАТРИЦ В ПРОТЕОМАХ ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ»,

представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07. – генетика.

Докторская диссертация А.А. Нижникова посвящена исследованию конформационных переходов в белках, связанных с образованием фибриллярных агрегатов (амилоидов). Это исключительно быстро развивающаяся область научных исследований. Большинство работ, посвящённых амилоидам связаны с их ролью в заболеваниях. В работе А.А. Нижникова основной упор делается на функциональную роль амилоидов, что придаёт вопросу более широкое общебиологическое значение. Поскольку трансмиссивные амилоиды (прионы), включая некоторые из амилоидов исследованные в данной работе, являются наследственными факторами у микроорганизмов, а также в связи с широким использованием генетических методов, работа А.А. Нижникова соответствует специальности «генетика». Важнейшей чертой работы является междисциплинарный подход к проблеме с использованием подходов биоинформатики, генетики, цитологии и биохимии, а также широкий охват модельных объектов (как прокариот так и эукариот). Исследования амилоидных свойств запасных белков растений и роли амилоидов в симбиозе бактерий и растений представляют собой принципиально новые научные направления, основанные на собственных оригинальных результатах А.А. Нижникова.

Глава 1 посвящена биоинформатическому и экспериментальному анализу амилоидогенных белков растений. Это исключительно интересная и новаторская тема, потому что амилоидные свойства растительных белков изучены очень плохо. С использованием комбинации биоинформатических и экспериментальных методов (как *in vitro*, так и *in vivo*) автор продемонстрировал амилоидные свойства белков запасных белков (купинов) семян бобовых, в частности вицилина. Приведены интересные данные указывающие на возможную роль амилоидов вицилина при хранении семян, а также на потенциальные антимикробные свойства.

Глава 2 посвящена анализу амилоидогенных белков у бактерий и их роли во взаимодействии между бактериями и организмами. При исследовании белков бактерий порядка Rhizobiales, выявлены амилоидогенные свойства белков Rop, вовлечённых во взаимодействия с растениями в ходе бобово-ризобияльного симбиоза. Роль амилоидов в симбиотических взаимоотношениях является новым научным направлением. Продемонстрированы также амилоидные свойства муцина YghJ *E. coli*.

В главе 3 проведено сравнение эффектов приона [*SWI*⁺], формируемого регулятором укладки хроматина Swi1, и делеции гена *SWI1* на экспрессию генома дорожкой. На основании этих данных сделан вывод о том что образование приона меняет функцию белка Swi1 а не просто инактивирует его. Это интересное исследование позволяющее характеризовать эффекты формирования амилоида белком-регулятором на уровне транскриптома.

Глава 4 посвящена анализу агрегации белка Gln3, который авторы называют «условным прионом», поскольку он агрегирует только при оверпродукции. В качестве

одного из основных критериев прионовой природы белка Gln3 рассматривается потеря агрегации при инактивации шаперона Hsp104. Но штамм, использованный автором содержит другой прион ($[PIN^+]$), зависимый от Hsp104, и этот прион возможно и определяет агрегацию Gln3. Аналогией является агрегация полиглутаминового экзона 1 хантингтина в клетках дрожжей, которая зависит от эндогенных прионов, в частности $[PIN^+]$; при этом сам экзон 1, хотя способен к агрегации, воспроизводимым прионом в клетках дрожжей не является. По моему мнению, приведённые в работе А.А. Нижникова данные не доказывают (хотя и позволяют предполагать) что Gln3 соответствует критериям независимого приона, и в этом контексте, термин «условный прион» представляется мне спорным. Следует также отметить, что вопреки утверждению автора, инфекционность не является обязательным критерием приона у дрожжей. Прионы определяются как трансмиссивные белки, поэтому достаточно наследования (трансмиссии) в клеточных поколениях (но в отсутствие сверхпродукции). Поэтому белок Lsb2 (агрегация которого наследуется, хотя и с низкой частотой, в отсутствие сверхпродукции и не зависит от $[PIN^+]$), вопреки утверждению автора, соответствует критериям приона, в отличие от Gln3. Следует отметить что эти замечания относятся исключительно к терминологии автора; сами по себе данные по агрегации Gln3 интересны и представляют несомненную научную ценность.

В ходе прочтения работы также возник ряд вопросов, касающихся конкретных деталей.

- 1) Как авторы объясняют псевдонегативный результат (отсутствие окраски Конго красным) при проверке белка Cupin-1.2 в системе C-DAG (рис. 5)?
- 2) Рис. 7B – как следует из описания, в этом эксперименте не получали сферопласты дрожжей, таким образом неясно как агрегаты вицилина проникали (и проникали ли?) внутрь клеток. Каким образом в этом случае можно объяснить токсичность амилоидов?
- 3) Проявляет ли белок YghJ амилоидные свойства *in vivo* помимо системы C-DAG, где он сливается с искусственным «якорем»?
- 4) Не совсем ясно, почему общее снижение экспрессии генов трансляционного аппарата и рибосомной РНК должно приводить к нонсенс-супрессии? Каков предполагаемый механизм?
- 5) Было бы интересно сравнить выводы автора с опубликованной позднее работой лаборатории Liming Li, также изучавшей эффект приона Swi1 на экспрессию генома дрожжей.

Упомянутые замечания и вопросы касаются деталей работы и не умаляют её научного значения, а также никоим образом не ставят под сомнение основные выводы, которые подтверждены большим объёмом экспериментальных результатов.

По материалам диссертации опубликовано 20 статей, из них 16 в течение последних 5 лет (в 13 из этих 16 статей А.А. Нижников является основным и-или первым автором). Большинство работ опубликовано в рейтинговых журналах первого или (реже) второго квартиля, включая такие хорошо известные журналы как PLoS Biology, PLoS Genetics, International Journal of Molecular Sciences. Этот список публикаций был бы убедительным аргументом для получения постоянной профессорской позиции (academic tenure) в

американском университете категории Research I, что по моему мнению является ближайшим аналогом российской степени доктора наук в американской системе.

Заключение: Диссертация Нижникова Антона Александровича на тему: «ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И ДЕЙСТВИЯ КОНФОРМАЦИОННЫХ БЕЛКОВЫХ МАТРИЦ В ПРОТЕОМАХ ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 № 6821/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Нижников Антон Александрович заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07. – генетика. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

К. б. н., с. н. с., профессор Школы биологических наук
Технологического института Джорджии, Атланта, США,
руководитель Научной лаборатории биологии амилоидов
Санкт-Петербургского госуниверситета, Санкт-Петербург,
РФ, действ. член Американской ассоциации содействия
развитию науки (AAAS)



Чернов Юрий Олегович

30 апреля 2021 г.