

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Митькевича Владимира Александровича на диссертацию Шенфельда Александра Анатольевича на тему «ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, ФОРМИРУЮЩИХ АМИЛОИДНЫЕ АГРЕГАТЫ В МОЗГЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика

Актуальность выбранной темы

Диссертационная работа Шенфельда А.А. посвящена выявлению белков, формирующих функциональные амилоидные агрегаты в мозге крысы. В настоящее время стало очевидным, что белки в амилоидной форме вызывают не только патологические изменения в организме, но играют важную функциональную роль. Такие белки были обнаружены во многих живых организмах и их список все время расширяется. Однако сведения о свойствах и способах осуществления амилоидными белками их физиологической функции остаются скудными и требуют интенсивного изучения. Этим и определяется актуальность темы диссертационного исследования Шенфельда А.А. в котором с помощью протеомного метода, позволяющего выделять белки, образующие детергент-устойчивые амилоидоподобные агрегаты в органах и тканях животных, проведен поиск белков, демонстрирующих амилоидные свойства в мозге крысы *Rattus norvegicus*.

Оценка содержания диссертации

Работа написана по стандартному плану и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список литературы. Работа изложена на 89 страницах, проиллюстрирована 16 рисунками и 2 таблицами. Список цитируемой литературы включает 241 источник. Также имеется одно приложение к работе на 10 страницах.

Введение дает полное представление об актуальности проблемы и степени разработанности темы, объекте и предмете исследования, научной новизне, теоретической и практической значимости, методологии исследования. В ней четко сформулированы цели и задачи работы и положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы хорошо структурирован и информативен. В обзоре содержится вся информация необходимая для понимания целей диссертации и ее результатов. Материал обзора представлен в доступной для широкого круга читателей манере, лаконичность изложения сочетается с четкой логикой и ясными формулировками.

Раздел Материалы и методы содержит широкий спектр молекулярно-генетических и биохимических методов исследования белков, методов микроскопии, иммуногистохимического анализа и статистической обработки данных. Также в исследовании был применен метод протеомного скрининга и идентификации амилоидов. Все экспериментальные процедуры и подходы описаны подробно, что делает их воспроизводимыми.

Раздел Результаты состоит из шести глав, в которых описаны основные работы, проведенные в диссертационном исследовании. В результате работ по протеому скринингу в мозге молодых самцов крысы *R. norvegicus* было отобрано 5 основных белков-кандидатов на роль функциональных амилоидов: NSF, MBP, RIMS1, STXB1 и FXR. Далее в качестве основного белка для исследования был выбран белок MBP и были проведены эксперименты по оценке амилоидных свойств этого белка в мозге крысы. Были получены данные по устойчивости белка MBP к SDS. Выявлена последовательность, ответственная за агрегацию MBP *in vivo*. Получены амилоидные фибриллы фрагмента белка MBP *in vitro*. Проведен анализ колокализации белка MBP с амилоид-связывающими красителями в миелинизированных участках мозга и амилоидных свойств MBP, выделенного из мозга с помощью иммунопреципитации.

В разделе Обсуждение проведен подробный анализ полученных результатов.

Научная новизна и научно-практическая значимость полученных результатов

В диссертационном исследовании впервые были выявлены белки-кандидаты на роль функциональных амилоидов в мозге крысы: MBP, FXR1, NSF, STXB1 и RIMS1. Подробное исследование основного белка миелина MBP показало, что он функционирует в мозге крысы в амилоидной форме. Полученные результаты позволили предложить новую модель структурной организации компактного миелина, в состав которого входят амилоидные фибриллы белка MBP. Обнаружение амилоидной природы белка MBP способствует большему пониманию роли данного белка в формировании и функционировании миелина в ЦНС, что может иметь важное значение для установления механизмов развития демиелинизирующих заболеваний. Продемонстрировано, что метод протеомного скрининга, использованный в работе, можно успешно применить для идентификации патологических и функциональных амилоидов в различных организмах, что позволяет расширить наши представления о физиологической значимости амилоидов в живых организмах, в целом, и в мозге млекопитающих, в частности.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Результаты, полученные по теме диссертационной работы опубликованы в 3 статьях в рецензируемых научных журналах, а также представлены на ряде Российских и международных конференциях. Взаимосвязь опубликованных работ с текстами разделов диссертации явная. Достоверность и новизна полученных результатов, на основании которых выдвинуты положения, не вызывает сомнений. Выводы диссертации полностью вытекают из представленных результатов.

При анализе диссертации Шенфельда А.А. возник ряд вопросов и замечаний:

1. При анализе амилоидных белков в начале исследования были отобраны 5 белков-кандидатов NSF, MBR, RIMS1, STXB1 и FXR1. Однако для дальнейших исследований был выбран только один белок MBR. В работе выбор этого белка недостаточно обоснован и не понятно почему другие белки не были проанализированы.
2. Название диссертации не отвечает ее содержанию. Только в первой главе результатов идет речь об идентификации амилоидных белков, а остальная основная часть работы посвящена исследованию только одного белка.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Шенфельда Александра Анатольевича на тему «ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, ФОРМИРУЮЩИХ АМИЛОИДНЫЕ АГРЕГАТЫ В МОЗГЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете». Соискатель Шенфельд Александр Анатольевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Член диссертационного совета,
доктор биологических наук, член-корреспондент РАН,
Митькевич Владимир Александрович
12 августа 2022 г.

Подпись Митькевича В.А. удостоверяю
Ученый секретарь ИМБ РАН, к.в.н.



Бочаров А.А.