

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Матиива Антона Богдановича «Агрегация адаптерного белка синтазы оксида азота 1 и его взаимодействие с α -синуклеином» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика

Актуальность темы:

Диссертация Матиива Антона Богдановича посвящена детальному исследованию агрегации белка NOS1AP при сверхпродукции и его взаимодействия с α -синуклеином. Учитывая ключевую роль агрегации α -синуклеина в болезни Паркинсона, выявление белков, которые с ним взаимодействуют и влияют на его агрегацию представляется актуальным.

Основные научные результаты, полученные автором в работе:

В работе показано, что белок NOS1AP не формирует амилоидных агрегатов в различных модельных системах. Установлено, что исследуемый белок при сверхпродукции агрегирует и колокализуется с α -синуклеином в клетках дрожжей и млекопитающих и может влиять на динамику его агрегации.

Новизна исследования и полученных результатов:

Впервые проведены исследования возможных амилоидных свойств белка NOS1AP. Полученные данные свидетельствуют о том, что на нынешнем этапе развития науки биоинформатические предсказания не эффективны для поиска амилоидных белков в организме. Сам по себе этот результат интересен и поучителен. Впервые получены данные, согласно которым при сверхпродукции NOS1AP может прямо или опосредовано взаимодействовать с α -синуклеином и влиять на его агрегацию.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, достаточно обоснованы. Их обоснованность подтверждается публикациями автора по теме диссертации в рейтинговых научных журналах.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученные в настоящем исследовании данные позволяют полагать, что NOS1AP при стрессовых условиях может взаимодействовать с α -синуклеином и влиять на его болезнетворную агрегацию. Эти данные могут иметь биомедицинскую значимость.

Структура и объем работы.

Текст диссертации включает традиционные разделы, Раздел «Результаты» иллюстрирован, в целом содержание работы изложено хорошо, подробно и понятно. Русскоязычный текст диссертации изложен на 159 страницах.

Оценка содержания диссертационной работы.

Название диссертации отражает её содержание. В работе получены новые результаты, которые представляют научный интерес. Вместе с тем, к работе есть определённые вопросы и замечания по форме изложения и по содержанию.

Некоторые предложения и фразы сформулированы не очень удачно с точки зрения русского языка. Так, например словосочетание «нами было предположено» следовало бы заменить на простую фразу - «мы предположили». Также не очень эстетично выглядит фраза ««свойства этого белка агрегировать не исследованы». Очевидно, речь идёт про способность белка к агрегации, а не о свойствах во множественном числе. Это мелкие замечания не по сути, а по форме. Однако, есть замечания и по научному содержанию работы. Так на странице 29 автор пишет: «Однако многое изменилось с обнаружением функциональных амилоидов белка СРЕВ моллюска *Aplysia californica* и его гомологов: Orb2 *D. Melanogaster* и СРЕВ3 мыши».

Распространённое заблуждение о том, что амилоидные свойства белка СРЕВ моллюска *Aplysia californica* и его гомолога СРЕВ3 мыши доказаны, допустимо, как мне кажется, лишь для неспециалиста в этой области. Никаких доказательств амилоидной природы

этих белков *in vivo* как не было, так и нет. Чёткие доказательства амилоидных свойств получены лишь для их ортолога Orb2 *D. melanogaster*.

Есть замечание к утверждению на странице 31: «Амилоидогенный фрагмент FXR1 является высококонсервативным у млекопитающих [142], что позволяет экстраполировать полученные результаты на ортологи этого белка у других организмов».

В принципе это верно, но амилоидные свойства этого белка в нейронах головного мозга различных представителей челюстных позвоночных экспериментально показаны более года назад (Velizhanina and Galkin, *Int J Mol Sci.* 2022; doi:10.3390/ijms23147997). Таким образом, можно обойтись без экстраполяции.

Не совсем понятно сомнение, которое выражает автор на странице 31: «Впрочем, возможно, что известные прионы низших эукариот также могут являться единицами наследования такой «памяти», которые, однако, уже переносят информацию, не ограничиваясь жизнью одной клетки, на протяжении многих клеточных поколений.»

Классические прионы дрожжей безусловно являются единицами наследственной информации, которая передаётся из поколения в поколение. Можно назвать это и «памятью» клетки. В этом и состоит суть явления «белковой наследственности» охарактеризованного Ридом Викнером.

Некое противоречие отмечается при прочтении текста на странице 38. Автор пишет: «В структуре α -синуклеина выделяют домен NAC (неамилоидный компонент) Далее говорится: «NAC участвует в агрегации и формировании кросс- β -структур.» Как это понимать? Если NAC участвует в формировании кросс- β -структур, то он не может быть неамилоидным компонентом.

Есть также вопросы и замечания к разделу «Результаты».

На странице 86 описывается подраздел «Изучение агрегации NOS1AP и его фрагментов в культуре клеток млекопитающих». Исходно автор полагал, что исследуемый белок может формировать амилоидные фибриллы в клетках млекопитающих. Почему же при анализе агрегации NOS1AP в культуре клеток млекопитающих не провели окрашивание амилоидспецифичными красителями? Ведь отсутствие амилоидных свойств в системе C-DAG отнюдь не означает, что белок не может формировать амилоидные фибриллы при сверхпродукции в культуре клеток млекопитающих.

При исследовании агрегации белка NOS1AP и его фрагментов, а также при анализе коагрегации этого белка с α -синуклеином в дрожжевых клетках не приводится никаких подсчётов частот колокализации. Автор представляет рисунки и говорит о колокализации, либо об отсутствии колокализации. Остаётся лишь верить на слово. Следует помнить, что низкие частоты колокализации могут наблюдаться случайно, при отсутствии физического взаимодействия белков.

При анализе коагрегации в клетках млекопитающих отмечается коагрегация всех трёх фрагментов NOS1AP с α -синуклеином. По мнению самого автора это выглядит несколько странно. Обычно специфическое взаимодействие определяется наличием эпитопа или эпитопов. Возможно, при искусственной сверхпродукции двух белков они неспецифически объединяются в тельцах включения. Можно было бы попробовать сверхпродуцировать лишь фрагменты NOS1AP слитые с флуоресцирующим белком и окрашивать клетки антителами к эндогенному α -синуклеину. Этот простой анализ возможной коагрегации представляется более адекватным.

В разделе «Обсуждение» на странице 106 автор пишет: «Для того, чтобы решить проблему отбора материала человеческих тканей, возможно применение биоинформатических подходов для предсказания белков, склонных к агрегации».

Конечно, такой подход возможен, но полученные в диссертации результаты как раз ярко демонстрируют, что он неэффективен. Белок, амилоидные свойства которого предсказаны биоинформатически, не демонстрирует амилоидных свойств в модельных системах. Это показывает, что современные биоинформатические алгоритмы не учитывают таких факторов, как влияние последовательностей прилежащих к потенциально амилоидогенным, взаимодействие белка с функциональными партнёрами, уровень продукции белка и так далее. Я бы на месте автора включил этот результат в выводы диссертации.

Заключение

Выводы диссертационной работы обоснованы и представлены корректно. Сделанные замечания и перечисленные вопросы не ставят под сомнение научную ценность проведённого исследования и значимость полученных научных результатов. Диссертация Матиива Антона Богдановича «Агрегация адаптерного белка синтазы оксида азота 1 и его взаимодействие с α -синуклеином» соответствует основным требованиям,

установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете». Соискатель Матиив Антон Богданович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Согласен на включение моих персональных данных в аттестационное дело, размещение в интернете и их дальнейшую обработку.

Член диссертационного совета, директор Санкт-Петербургского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской Академии Наук,

Профессор кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ,

доктор биологических наук

по специальности 1.5.7. (03.02.07.) – генетика

Галкин Алексей Петрович,

Университетская наб., 7/9,

Санкт-Петербург, 199034

E-mail: apgalkin@mail.ru

