ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Качкина Даниила Валерьевича на тему: «Анализ амилоидных свойств белка PHC3 человека», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология

Диссертация Даниила Валерьевича Качкина, выполненная в Санкт-Петербургском государственном университете под руководством Юрия Олеговича Чернова и Александра Анатольевича Рубеля направлена на углубление знаний о функциональности амилоидогенности и расширение списка потенциально агрегирующих белков в клетках эукариот. В представленной к защите работе выявлен потенциал PHC3, полноразмерный вариант которого принимает участие в ремоделировании хроматина и оказывает влияние на дифференциальную активность генов в клетках человека. В работе показано, что агрегация укороченных вариантов этого белка может вовлекать функциональный белок в агрегацию, оказывая таким образом влияние на его способность к реализации своей функции. Полученные результаты вносят существенный вклад в современные представления о способах посттрансляционной регуляции активности генов, а также дополняют список функциональных амилоидов. С учетом вклада амилоидов в развитие различных заболеваний с поздней манифестацией у человека, актуальность исследования не вызывает сомнения. Работа Д.В. Качкина вносит существенный вклад в развитие современной клеточной биологии и имеет потенциал к развитию как в направлении фундаментальной клеточной и молекулярной биологии, так и популяционной генетики, и биомедицины.

Объем диссертации на английском и русском языках составляет 217 страниц, из которых 115 отведено русскоязычному варианту. Диссертация построена по традиционному плану, основной текст дополнен приложениями, содержащими сведения о существующих методах предсказания амилоидогенности свойств белков, а также данные о молекулярной организации полученных в ходе работы плазмид и структуре генов семейства регуляторов раннего развития с указанием участков потенциальной амилоидогенности на основе данных предсказания по алгоритмам AmylPred2 и ArchCandy. Работа открывается исчерпывающим списком сокращений и завершается разделом с благодарностями своим руководителям и коллегам. Основной текст содержит Введение, 4 Главы: Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, а также Заключение, Выводы и Список литературы. Во введении Д.В. Качкин достаточно убедительно формулирует актуальность темы работы, делая акцент на функционировании исследуемого белка. Это позволяет сформулировать цель и конкретные задачи работы. Также этот раздел содержит необходимую формальную информацию, такую как Научная новизна, Значимость работы, Личный вклад автора, Апробация результатов, Список публикаций по теме работы, Финансовая поддержка работы, объем и структура диссертации. К сожалению, сразу бросается в глаза несоответствие указанных в последнем разделе цифр с реальными: так указано, что количество источников с списке составило 212, тогда как в списке их перечислено 262, объем текста также не соответствует реальному – указано, что он

размещен на 216 страницах, такие неточности создают впечатление небрежности оформления и портят впечатление от достаточно интересных результатов самой работы.

Оформление Диссертации в целом соответствует требованиям ГОСТ и Порядку присуждения ученых степеней в СПбГУ, хотя в ней отсутствует раздел с положениями, вынесенными на защиту. В то же время структура работы позволяет вычленить их.

В обзоре литературы Д.В. Качкин достаточно много внимания уделяет собственно феномену конформационного преобразования клеточных белков в амилоиды, уделяя внимание не только патогенным примерам таких преобразований, но и суммирует имеющиеся данные о физиологических амилоидах. Несколько глав обзора посвящено существующим на сегодня методам определения амилоидогенного потенциала белков и поиска неописанных ранее молекул с потенциалом к конформационным преобразованием с последующей агрегацией. Помимо биохимических и молекулярно-биологических методов исследования, автор уделяет внимание различным подходам на основе биоинформатики и компьютерного моделирования. Описывая существующие на сегодня методы скрининга потенциально амилоидогенных белков автор уделяет особое внимание методам на основе экспрессии рекомбинантных молекул в клетках дрожжей сахаромицетов. В завершении обзора Д.В. Качкин останавливается на описании функций и молекулярной структуры белка PHC3. Этот раздел обильно иллюстрирован, что улучшает восприятие текста.

В главе Материалы и методы достаточно много внимания уделено методам генной и клеточной инженерии, что свидетельствует о высокой квалификации автора и не оставляет сомнения в объеме личного вклада в достижении результатов в рамках поставленных в работе задач. Представленные в таблицах данные о штаммах, плазмидах, праймерах и другой информации как в тексте главы, так и вынесенные в приложения, позволяют быстро ориентироваться в информации и являются достоинством работы. Отдельно хотелось бы отметить использованный в работе спектр методов работы с клетками млекопитающих, включающий самые современные подходы визуализации молекул в клетках, а также количественного и качественного исследования их состава.

Главы Результаты и Обсуждение отталкиваются от единой логики изложения и последовательно погружают в анализ амилоидных свойств белка PHC3 человека в соответствии с целью работы. Каждый результат качественно проиллюстрирован собственными материалами. Полученные Д.В. Качкиным результаты, свидетельствующие о возможности инактивации полноразмерного белка PHC3 за счет его вовлечения в амилоидные агрегаты укороченных его вариантов, что опосредованно скажется на активности комплекса PRC1, относящегося к семейству PcG, имеют исключительно важное значение для понимания механизмов регуляции репрессирующих комплексов, регулирующих множество ключевых генов, вовлеченных в индивидуальное развитие.

Предложенная Д.В. Качкиным модель регуляции работы полноразмерного белка PHC3 с участием амилоидной агрегации, инициированной укороченными формами действительно ошеломляет простотой и убедительностью. Хочется уточнить у автора, не считает ли он ее одним из механизмов возрастных нарушений инактивации гетерохроматиновых районов, влекущих активацию в клетках эндогенных вирусов?

Поставленная в работе цель и конкретные задачи достигнуты. Результаты прошли апробацию на конференциях и научных мероприятиях различного уровня, по теме опубликовано 3 статьи в ведущих рецензируемых научных изданиях. Разработанные в ходе работы методические подходы безусловно найдут применение в работах других авторов, а полученные результаты внесли существенный вклад в современную клеточную биологию.

Диссертация Даниила Валерьевича Качкина на тему: «Анализ амилоидных свойств белка PHC3 человека» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.22. Клеточная биология. Полученные результаты и выводы полностью соответствуют паспорту указанной специальности. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не обнаружено. В Диссертации соискатель ссылается на источники цитирования материалов или отдельных результатов, включая собственные работы, выполненные в соавторстве с коллегами. Диссертация Д.В. Качкина на соискание ученой степени кандидата биологических наук, несомненно, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей важное значение для современной клеточной биологии и может дать толчок к более полному пониманию механизмов регулирования дифференциальной экспрессии генов в ходе онтогенеза в норме и патологии.

Член диссертационного совета
д.б.н., профессор кафедры анатомии
и физиологии человека и животных
РГПУ им А.И.Герцена Алсу Фаритовна Сайфитдинова

РГПУ им. А.И. ГЕРЦЕНА
подпись А.Ф. Сайфитдиновой
удостоверяю «15» 12 2022 г.
Отдел кадров управления по работе с кадрами
и организационно-контрольному обеспечению

Ведущий документовед
отдела кадров
В.В. Рубинчик