

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Данилова Лаврентия Глебовича тему: «Изучение амилоидных свойств белков нуклеопоринов и влияния их агрегации на импорт макромолекул в ядро в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.7. Генетика.

В последние годы значительно растет число работ, посвященных изучению молекулярных механизмов амилоидогенеза, что, с одной стороны, связано с необходимостью поиска эффективной терапии для лечения заболеваний человека в основе патогенеза которых лежит амилоидная патология. С другой, увеличением числа функциональных амилоидов у разных организмов. Оказалось, что функциональные амилоиды задействованы во многих важных клеточных процессах. Представленная работа посвящена изучению амилоидогенных свойств нуклеопоринов, участвующих в транспорте макромолекул в ядро клетки. Тема работы, несомненно, является **актуальной** и важной.

Во «Введении» обоснованы актуальность и научная новизна проведенного исследования, корректно сформулированы цель и задачи, теоретическая значимость проведенных исследований, приведены основные положения, выносимые автором на защиту.

Для достижения поставленной цели, а именно «оценке консервативности амилоидных свойств нуклеопоринов с FG-повторами в модельных системах и влияния агрегации нуклеопоринов на ядерно-цитоплазматический транспорт в клетках дрожжей» диссертант использует значительный арсенал современных методов молекулярной биологии, генетики, биоинформатики, несколько видов микроскопии.

В «Обзоре литературы» проводит общую характеристику амилоидов, в дальнейшем более подробно останавливаясь на свойствах и методах идентификации «патологических» и «функциональных» амилоидов у разных организмов. В обзоре также представлено детальное описание свойств белков нуклеопоринов, и влияние агрегации белков на ядерно-цитоплазматический транспорт. Обзор дает объективную картину состояния исследований на сегодняшний день по теме работы.

Основная часть работы посвящена исследованию и доказательству амилоидных свойств белка NUP58. Для этого автор использует бактериальные и дрожжевые системы, электронную, флуоресцентную и световую микроскопию. В ходе работы было показано, что фрагмент с 1 по 213 кислоту белка NUP58 проявляет амилоидогенные свойства. Биоинформатический скрининг нуклеопоринов, проведенный для оценки консервативности амилоидогенных свойств, показал, что нуклеопорины из различных организмов демонстрируют амилоидные свойства в дрожжевой и бактериальных системах. Также получены интересные данные о влиянии агрегации фрагментов белков нуклеопоринов на ядерно-цитоплазматический транспорт.

#### **Достоверность и обоснованность положений и выводов диссертации.**

Экспериментальные данные, лежащие в основе диссертационного исследования Данилова Лаврентия Глебовича, получены на достаточном для такого типа исследований объеме материала, с использованием современных методов, адекватных поставленным задачам, грамотно статистически обработаны. Основные результаты диссертационного исследования были представлены на отечественных и международных конференциях и опубликованы в 3 статьях в рецензируемых журналах. Достоверность представленных в диссертации материалов не вызывает сомнений.

**Теоретическая значимость работы** определяется полученными фундаментальными сведениями о механизмах функционирования «функциональных» амилоидов. С **практической** точки зрения несомненный интерес представляют данные об обнаруженных амилоидогенных свойствах ряда белков нуклеопоринов, участвующих в транспорте макромолекул в ядро клетки.

#### **Замечания.**

- 1) На странице 49 указано, что обработка протеиназой К продолжалась 60 минут, а на странице 58 – 90 минут. Что правильно?
- 2) Автор не приводит количественных результатов Вестерн-блотинга, а оперирует понятиями «больше» или «меньше», что не всегда совпадает с представленными фотографиями, возможно из-за качества последних.
- 3) Рисунок 19. Вместо обозначения Pol должно быть GFP.
- 4) Страница 67. Анализ агрегации фрагментов белка NUP58 в дрожжевой системе. Автор указывает, что «проведенный анализ показал отсутствие различий в частоте встречаемости агрегатов фрагментов

белков нуклеопоринов в [PIN<sup>+</sup>] и [pin<sup>-</sup>] штаммах». Что это за анализ (полагаю, что был проведен подсчет флуоресцентных фокусов), как он был проведен автор не сообщает. Как и не представляет количественных результатов.

Также на странице 79 в Таблице 9 представлена информация о количестве клеток с GFP локусами, но как проводился подсчет также не указано.

- 5) Страница 71. Почему из других отобранных белков для детального анализа был выбран именно Nup100?
- 6) Страница 72. «...нами было отобрано отдельные представители ортологов из различных организмов». Хорошо было бы уже здесь перечислить какие именно.
- 7) На основе представленных фотографий трудно согласиться с выводом автора о наличии фибрилл белка Nup58 и его фрагментов на поверхности бактерий.

К замечаниям редакционного характера следует также отнести незначительные опечатки, отдельные неудачные фразы, встречающиеся в тексте, качество микрофотографий.

### **Заключение.**

Сделанные замечания не снижают значение проведенных исследований и полученных результатов. Таким образом, есть все основания рассматривать диссертацию Данилова Лаврентия Глебовича тему: «Изучение амилоидных свойств белков нуклеопоринов и влияния их агрегации на импорт макромолекул в ядро в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*», как научно-квалификационную работу, существенно расширяющую представление о молекулярных механизмах амилоидогенеза.

Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.7. Генетика.

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, соискателем ученой степени мною не установлено.

Диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете» и рекомендована к защите в СПбГУ.

Член диссертационного совета

Зав. лабораторией экспериментальной генетики, заместитель директора по научной работе Федерального государственного учреждения Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,  
доктор биологических наук  
по специальности 1.5.7. (03.02.07) - Генетика,  
Саранцева Светлана Владимировна



26.12.2024

Подпись ФУКИ *Саранцева С.В.*  
ЗАВЕРЯЮ  
НАЧАЛЬНИК ОТДЕЛА КАДРОВ Зинцова А.Н.

