

УТВЕРЖДАЮ

Проректор
МГУ имени М.В.Ломоносова

А.А. Фолянин
« 05.12 » 2022 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (ФГБОУ ВО МГУ имени М.В.Ломоносова)

на диссертационную работу Синюковой Веры Александровны «Поиск функциональных амилоидов в яичниках *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Работа выполнена в Лаборатории генетического моделирования болезней человека Санкт-Петербургского филиала Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук; научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Галкин Алексей Петрович.

Диссертационная работа Синюковой В.А. посвящена идентификации и исследованию белков, для которых ранее не были показаны амилоидные свойства, у таких генетических модельных объектов, как *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*.

Актуальность исследования

Актуальность работы связана в первую очередь с амилоидами как с группой белков, интерес к которой в последние десятилетия значительно возрастает. Кроме традиционных представлений об амилоидах, как исключительно патологических белках, вовлеченных в развитие множества заболеваний человека, в последние годы сформировалось понимание, что амилоиды и в норме выполняют ряд жизненно важных функций у самых различных эволюционно отдаленных организмов. Имеются данные о том, что в оболочках яиц и ооцитов как позвоночных, так и беспозвоночных организмов присутствуют амилоидные белки, однако ранее не проводилось системного анализа для выявления других подобных белков. Однако в лаборатории соискателя был разработан метод протеомного скрининга амилоидов (PSIA-LC-MALDI), при помощи которого был проведен скрининг белков яиц и ооцитов таких генетических модельных объектов, как *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*.

Научная новизна и практическая значимость исследования

Научную новизну диссертационной работы определяют следующие результаты исследования, полученные соискателем:

Были проведены протеомные скрининги и выявлены белки-кандидаты на роль функциональных амилоидов у таких модельных объектов, как *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*.

Для *Gallus gallus domesticus* в яичниках было показано наличие структур, связывающих амилоид-специфичный краситель Тиофлавин S, но не другие амилоид-специфичные красители. Для фрагмента белка Вителлогенин показано, что он способен образовывать *in vitro* амилоидные фибриллы, однако в совокупности с данными *in vivo* нельзя сделать вывод, что Vtg2 формирует амилоидные агрегаты в организме *Gallus gallus domesticus*.

На основании данных о том, что Тиофлавин S связывает структуры, которые не окрашиваются другими амилоид-специфичными красителями, сделан вывод, что вышеупомянутый краситель следует использовать с осторожностью в дальнейшем для выявления амилоидных структур. Это имеет важное практическое значение для исследователей в данной области.

Для *Drosophila melanogaster* было впервые показано, что один из основных структурных белков хориона, s36, способен образовывать амилоидные фибриллы. В амилоидной форме s36 необходим для формирования специализированных структур хориона. В настоящей работе было установлено, что нарушение секреции и агрегации данного белка препятствует формированию специализированных структур оболочки яиц, таких как пилларс, микропиле и плавательные усики.

Замечания по диссертационной работе

Результаты работы местами изложены слишком лаконично, без должных пояснений. В связи с этим возникает ряд вопросов.

1. В табл.3 «Белки, идентифицированные в яичнике курицы методом протеомного скрининга» приведены обнаруженные в ходе скрининга белки-кандидаты. Почему в таблицу не попал белок Vtg1, упоминаемый в тексте ниже: «также методом протеомного скрининга был идентифицирован белок вителлогенин 1 (VTG1), однако со значительно более низким счетом масс-спектрометрии»? Каковы были критерии отбора белков-кандидатов?

2. В результате биоинформатического анализа последовательности вителлогенина автором был выявлен ряд потенциально амилоидогенных регионов, показанных на рис. 5. Автор пишет, что «на основе полученных данных был выбран фрагмент белка для наработки *in vitro* и последующего анализа амилоидогенных свойств». Однако автор не объясняет, почему был выбран фрагмент с 696 по 1019 а.о. Из рис. 5 это неочевидно. Также к рис. 5 нет пояснений, что означают столбики (Sum of Scores). Непонятно, Vit2 – это то же, что и Vtg2?

Структура и содержание работы

Диссертационная работа построена по общепринятому плану и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список использованной литературы» и «Приложения». Основная часть работы занимает 96 страниц, приложения – 4 страницы. Работа иллюстрирована 17-ю рисунками и дополнена 4-мя таблицами. Список литературы содержит 145 источников (из них – 144 на английском языке). Общий объем работы составляет 100 страниц.

Введение полностью отвечает названию диссертации, в нем ясно сформулированы актуальность, цели и задачи работы, обозначены научная новизна работы, а также сведения, необходимые для понимания рассматриваемых вопросов.

Глава «Обзор литературы» состоит из 5 разделов и подробно описывает современные представления об амилоидах, их разнообразии и основных биохимических характеристиках, особое внимание уделяется функциональным амилоидам в оогенезе. Отдельные разделы посвящены описанию *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster* и их процессов оогенеза. Обзор литературы написан хорошим литературным языком, легко и с интересом читается, содержит всю информацию, необходимую для понимания современного состояния исследуемой проблемы.

Глава «Материалы и методы» содержит подробную информацию об использованных в исследовании классических и современных методах молекулярной генетики, микробиологии, биохимии, цитологии, применявшихся при выполнении данной работы. Методы написаны четко и воспроизводимо.

Глава «Результаты» состоит из двух разделов. Первый раздел посвящен поиску амилоидных структур в яичниках *Gallus gallus domesticus*. В данном разделе приведены результаты протеомных скринингов и окрашиваний криосрезов яичников и препаратов ламповых щеток амилоид-специфичными красителями, а также анализ амилоидных свойств белка Вителлогенин *in vivo* и *in vitro*. Второй раздел посвящен поиску амилоидных структур в яичниках *Drosophila melanogaster*, в разделе приведены результаты протеомных скринингов и окрашиваний криосрезов яичников мух дикого типа и мух с нарушением развития хориона яиц. Данная часть работы посвящена также анализу амилоидных свойств белков s36 и s38 *in vivo* и *in vitro*.

В главе «Обсуждение результатов» рассматриваются полученные в работе результаты в контексте уже имеющихся сведений о ранее известных функциональных амилоидах и проводится анализ функциональной значимости амилоидных белков *Drosophila melanogaster*. Также в данном разделе высказываются предположения об эволюционной значимости амилоидов в формировании структур, вовлеченных в оогенез у эволюционно отдаленных организмов.

В главе «Заключение» в краткой форме приведены итоги всех проведенных исследований.

Выводы соответствуют результатам исследования.

3. Табл. 4 «Белки хориона, выявленные при протеомном скрининге яичников *Drosophila melanogaster*» посвящена тому же, что и табл. 3, но у дрозофилы. Однако построена она по-другому, здесь в столбцах указаны разные показатели «score» (1, 2, 3, 4) как степень достоверности полученных данных. Чем эти показатели «score» различаются?

4. В ходе протеомного скрининга амилоидных белков у курицы и дрозофилы выявлен ряд белков-кандидатов. Какие из обнаруженных белков *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster* гомологичны? Не хватает сравнительного анализа.

5. Поскольку используемые организмы являются в данной работе модельными, возникает вопрос, есть ли белки, гомологичные обнаруженным в работе, у человека?

Указанные замечания не снижают ценности работы и носят дискуссионный характер. В целом, работа без сомнения представляет значительный интерес и открывает широкие перспективы для дальнейших исследований.

Заключение

Диссертационная работа Синюковой Веры Александровны «Поиск функциональных амилоидов в яичниках *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*» является завершенной работой, выполненной на высоком методическом уровне с использованием современных методов. По актуальности, научной новизне, объему и достоверности выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям пп. 9-11 и 13-14 Постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. N 842 "О порядке присуждения ученых степеней" от 24 сентября 2013 г. с изменениями, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Синюкова Вера Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Отзыв на диссертационную работу Синюковой В.А. подготовлен доктором биологических наук, профессором кафедры генетики биологического факультета МГУ Нефедовой Лидией Николаевной. Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры генетики (Протокол №04-22 от 26 ноября 2022 г., присутствовали 18 человек профессорско-преподавательского состава. «За» - 18, «против» и «воздержавшихся» - 0.

Профессор кафедры генетики
биологического факультета МГУ, д.б.н.



Л.Н. Нефедова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова) 119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1. e-mail: info@rector.msu.ru

Подпись Нефедовой Л.Н.
удостоверено
Генеральный секретарь биологического факультета МГУ



05. 12. 2022

4