

## ОТЗЫВ

официального оппонента д.б.н. Савватеевой-Поповой Е.В.

на диссертационную работу Синюковой Веры Александровны  
«ПОИСК ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ В ЯИЧНИКАХ *GALLUS GALLUS*  
*DOMESTICUS* И *DROSOPHILA MELANOGASTER*»

представленной к защите на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности

1.5.7 – генетика

### Актуальность темы исследования

Традиционно особое внимание принято уделять патологическим амилоидам, ассоциированным с десятками заболеваний человека, многие из которых являются неизлечимыми. В последнее время все чаще изучают функциональные амилоиды, в норме присутствующие в клетках широкого спектра живых организмов и выполняющие жизненно важные функции, от бактерий до млекопитающих и человека. При этом открытие функциональных амилоидов в основном случайно. До недавнего времени не было методик идентификации всего спектра амилоидов в исследуемом образце. Однако, в лаборатории, где работает соискатель, был разработан универсальный метод протеомного скрининга амилоидов (PSIA-LC-MALDI), основанный на устойчивости амилоидных фибрилл к ионным детергентам. При помощи этого метода проведен системный скрининг белков в яичниках таких классических генетических модельных объектов как куры *Gallus gallus domesticus* и плодовая мушка *Drosophila melanogaster*.

### Цель и задачи исследования

Поиск функциональных амилоидов в яичниках *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*.

В соответствии с этой целью были поставлены следующие задачи:

1. Выявить в яичниках исследуемых объектов структуры, которые связывают амилоидспецифичные красители.
2. Провести протеомный скрининг кандидатов на роль функциональных амилоидов в ооцитах *Drosophila melanogaster* и *Gallus gallus domesticus*.
3. Исследовать амилоидные свойства выявленных в протеомном скрининге белков *in vivo*, и *in vitro*.

### **Научная новизна работы**

Проведены протеомные скрининги белков в ооцитах *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*, на основании которых составлены списки белков-кандидатов на роль функциональных амилоидов. Охарактеризовано связывание различных белковых структур с амилоидспецифичными красителями в ооцитах кур и дрозофилы.

Установлено, что в ооцитах домашней курицы краситель тиофлавин S специфически связывается с хромосом-ассоциированными и цитоплазматическими структурами, которые не окрашиваются конго красным и не связывают амилоидспецифичные антитела. Впервые были показаны амилоидные свойства для таких давно известных структур оболочки яиц дрозофилы, как микропиле, дорзальные выросты и пилларс. Идентифицирован белок, формирующий функциональные амилоидные фибриллы в специализированных структурах оболочки ооцитов дрозофилы.

### **Теоретическая значимость**

Проведенное исследование позволило выявить перечень белков, которые можно рассматривать в качестве кандидатов на роль функциональных амилоидов в яйцах и яичниках таких классических генетических модельных объектов, как курица *Gallus gallus domesticus* и плодовая мушка *Drosophila melanogaster*. Показано, что тиофлавин S может связывать белковые структуры, которые не окрашиваются другим амилоидным красителем конго красным, и не распознаются амилоидспецифичными антителами. Таким образом, наши данные показывают, что тиофлавин S следует использовать с осторожностью при выявлении и идентификации амилоидных белков. Основным результатом работы является идентификация белка, формирующего амилоидные фибриллы, которые являются основным компонентом для формирования жизненно-важных структур в оболочке яйца дрозофилы. Сопоставление полученных результатов с данными из литературных источников позволяет сделать заключение о полифилетическом происхождении и функциональной значимости амилоидных структур в оболочках яиц и яйцеклеток различных животных.

**Апробация работы** достаточно убедительна, полученные результаты изложены в 6 статьях в журналах, включенных в международные базы данных Scopus и Web of Science, а также 10 тезисов в сборниках российских и международных конференций, входящих в РИНЦ.

### **Структура и объем диссертационной работы:**

Диссертация включает в себя следующие главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Выводы» и «Список использованной литературы». Работа изложена на 100 страницах машинописного текста, содержит 17 рисунков и 4 таблицы. Список цитируемой литературы включает 145 наименований (из них 144 – на английском языке). Работа содержит Приложения А и Б, включающие график, рисунок и таблицу каждое.

В работе применен широчайшего спектра современных методов, язык автора и характер изложения изобличает зрелого исследователя, но именно на этом моменте – язык - и возникает ряд вопросов и замечаний, которые следует учесть в будущем.

Опыт работы М.Е. Лобашева в Институте физиологии им. И.П. Павлова до его возвращения в ЛГУ для основания нашей кафедры приучил к тому, что термин «кура или куры» - относится к живому объекту. Термин «журица» - понятие гастрономическое. Автор же все время прибегает к смешению терминов, что активно обсуждается в Википедии со ссылкой на разницу речений Санкт-Петербурга и Москвы, типа «бордюр» и «поробрик», а также «парадная» и «подъезд» Вопрос – а кто автор «размышления у парадного подъезда» и где он творил? Поэтому, не вдаваясь в суть взаимосвязи Деда Мазая и зайцев следовало бы прибегать к общепринятой латыни: *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*.

В целом же, поскольку оппонент был и рецензентом представляемой к предзащите кандидатской диссертации Синюковой В.А., можно с величайшим удовлетворением отметить, что автор с того момента проделала огромную работу над текстом, особо подчеркнув значимость «Золотого стандарта» для выявления амилоидов, что нашло отражение в разделе «Положения, выносимые на защиту»:

1. Тиофлавин S способен окрашивать белки, которые не демонстрируют классические свойства амилоидов, а именно окрашивание конго красным и связывание с амилоидспецифичными антителами.

В целом же получилась удивительной красоты работа, заслуживающая публикации либо как монографии, либо как учебного пособия.

**Замечаний к работе** нет, некоторые опечатки и не всегда удачные выражения никак не снижают ее значимости.

### **Заключение**

По актуальности, научной новизне, объему и качеству выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертация В.А.

Синюковой «Поиск функциональных амилоидов в яичниках *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*» является завершенным научным исследованием, полностью соответствует п.п. 9-11,13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлениями Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, ред. от 01.10.2018 № 1168, ред. от 20.03.2021 № 426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Вера Александровна Синюкова, безусловно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 -генетика.

**Савватеева-Попова Елена Владимировна,**

доктор биологических наук,

главный научный сотрудник,

заведующий Лабораторией нейрогенетики

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской Академии наук

Адрес института: 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6.

Тел.: +7 (812) 328-11-01

E-mail: esavvateeva@mail.ru

Подпись д.б.н. Савватеевой-Поповой Е.В. заверяю

Ученый секретарь

ИФ им. И.П. Павлова РАН

Петропавловская Екатерина Алексеевна



5.12.2022