



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта  
Российской академии наук**

**(ИМБ РАН)**

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,  
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: [jsinfo@eimb.ru](mailto:jsinfo@eimb.ru)  
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

15.08.2019 № 12312-2181

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Директор ИМБ РАН  
академик РАН



А.А.Макаров

*А.А. Макаров* 2019 г.

**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертацию Серпионова Генриха Владимировича «Роль взаимодействий между амилоидогенными белками в возникновении и токсичности амилоидов гентингтина человека у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия

**Актуальность исследования**

Диссертационная работа Серпионова Генриха Владимировича посвящена амилоидным белкам, агрегация которых связана с возникновением хореи Гентингтона, нейродегенеративного заболевания человека. Болезнь Гентингтона является неизлечимым заболеванием, имеющим аутосомно-доминантный тип наследования. Это заболевание возникает в результате амилоидной агрегации белка гентингтина с удлинённым полиглутаминовым доменом. Болезнь Гентингтона принадлежит к большому классу заболеваний, связанных с неправильным сворачиванием белков, так называемых конформационных болезней. К этому классу также относятся такие заболевания, как болезнь Альцгеймера, Паркинсона и ряд других. Все эти болезни имеют ряд общих характерных

признаков, в частности при этих заболеваниях наблюдается амилоидная агрегация белков, а также взаимодействие функциональных белков клетки с патологическими амилоидами.

В своем диссертационном исследовании соискатель, используя дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* в качестве модельного объекта, демонстрирует, что белковый продукт немутантной аллели гена гентингина - белок Htt25Q, ранее считавшийся непатологическим и неамилоидогенным, в присутствии нетоксичных амилоидов других белков может агрегировать и вызывать токсичность в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Автор также показывает, что причиной этой токсичности является агрегация двух жизненно важных белков клетки, принимающих участие в терминации трансляции: Sup35 и Sup45. На основании этих и других данных автор демонстрирует существование последовательных полимеризационных каскадов взаимодействий между амилоидами и другими белками, склонными к агрегации.

Помимо этого автор сравнивает различные механизмы токсичности мутантного гентингина – белка Htt103Q, реализующиеся в разных штаммах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* BY4742 и 74D-694.

## **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа Серпионова Генриха Владимировича изложена на 143 страницах и состоит из введения, обзора литературы, посвященному описанию амилоидогенных белков, их биологически значимых и патологических свойств, а также связи амилоидов с различными нейродегенеративными заболеваниями, раздела “Материалы и методы”, в котором приводятся современные биохимические, микробиологические и молекулярно-генетические методы исследования, экспериментальных результатов, обсуждения, заключения и списка используемой литературы, состоящего из 213 наименований. Материал излагается в логичной последовательной форме и снабжен удобным для понимания иллюстративным материалом, включающим рисунки, схемы и таблицы.

Во введении автор показывает актуальность настоящей работы, ее научную новизну и практическую значимость, формулирует цели и задачи данной работы.

Литературный обзор посвящен функциональным и патологическим амилоидам, их структурным особенностям, различным фенотипам, вызываемым присутствием амилоидов в клетке, а также описанию амилоидных болезней, в частности болезни Гентингтона. Автор описывает известные на сегодняшний день механизмы развития патологии этого заболевания. По прочтении обзора видно, что автор проработал большое количество литературного материала, структурировал и проанализировал его. Обзор в полной мере освещает известные на сегодняшний день представления об амилоидогенных белках, в частности тех из них, которые связаны с развитием полиглутаминовых заболеваний.

В разделе “Материалы и методы” автором описываются использованные современные биохимические и молекулярно-биологические методы работы с белками и ДНК, микробиологические методы культивирования и работы с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*.

Раздел “Результаты” состоит из двух частей. В первой части обосновано и логично доказывается возможность нахождения белка Htt25Q в патологической амилоидной форме в присутствии других амилоидов в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Объясняется причина токсического эффекта амилоидов, образованных белком Htt25Q, связанная с агрегацией факторов терминации трансляции - белков Sup35 и Sup45. Продемонстрирован эффект последовательной передачи амилоидной структуры от одних амилоидов другим в присутствии посредника, а также “эффект асимметрии” амилоидной полимеризации. Вторая часть раздела посвящена исследованию эффектов ингибирования роста клеток дрожжей при сверхпродукции белкового продукта мутантной аллели гена Гентингтина (Htt103Q) в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Основываясь на ранее полученных результатах, соискатель показывает, что механизм токсичности белка 103Q, обнаруженный в штамме 74D-694, не реализуется в штамме BY4742. В то же время делеция гена *DEF1*, снимающая токсичность белка 103Q в штамме BY4742, не снимает токсичность 103Q в штамме 74D-694.

Раздел “Обсуждение” состоит из 5 подразделов, в каждом из которых подробно объясняются основные результаты, полученные в ходе выполнения диссертационного исследования. Кроме того, в данном разделе предложен новый механизм возникновения и патогенеза полиглутаминовых заболеваний, в частности болезни Гентингтона.

Раздел “Заключение” содержит 6 выводов, которые четко сформулированы и строго отражают результаты, полученные в рамках выполнения данной диссертационной работы.

По теме диссертации автором опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ или индексируемых МБД Scopus и Web of Science, и 4 тезиса в материалах отечественных и международных конференций.

### **Научная новизна, теоретическая и практическая значимость**

В данной диссертационной работе впервые доказана способность белка Htt25Q вызывать ингибирование роста клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в присутствии амилоидов искусственных полиглутаминовых белков 120QY-НА, 76QY-НА, 131Q-НА, 101QT-НА и прионогенного белка Rnq1 при условии его сверхпродукции. Впервые показан токсический эффект растворимой формы белка Htt25Q в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, в условиях, не оптимальных для их роста. Объяснен механизм, лежащий в основе токсического эффекта агрегированной формы Htt25Q, состоящий в переходе в нерастворимую фракцию

жизненно важных белков – факторов терминации трансляции Sup35 и Sup45. Впервые продемонстрированы последовательная трехстадийная передача амилоидной укладки от одних амилоидов другим, а также эффект асимметрии в передаче амилоидной конформации. Показано, что в основе токсичности мутантного гентингина, могут лежать механизмы, различающиеся для разных дрожжевых штаммов.

Изучение молекулярных основ патологических изменений в клетках, на примере болезни Гентингтона может помочь открыть новые механизмы развития патологии, которые могут быть характерны не только для хорей Гентингтона, но и для других амилоидных болезней. Полученные результаты могут быть полезны для дальнейших фундаментальных и прикладных исследований в области прогнозирования развития патологии при болезни Гентингтона, и других полиглутаминовых болезнях.

### **Обоснованность и достоверность выводов**

Представленные в диссертационной работе выводы полностью отражают полученные результаты, являются обоснованными и соответствуют проведенным в рамках работы исследованиям. Большинство результатов, представленных в диссертационной работе опубликованы в реферируемых зарубежных журналах и представлены на отечественных и международных конференциях. В целом, все представленные в работе данные достоверны.

### **Замечания**

У ведущей организации отсутствуют принципиальные замечания по диссертационной работе Серпионова Генриха Владимировича, однако в работе присутствует ряд недочетов.

В частности в тексте диссертации присутствуют пунктуационные ошибки, что затрудняет восприятие некоторых предложений. Помимо этого присутствуют недочеты в оформлении некоторых рисунков. Например, на рисунке 17, на котором изображено микроскопическое изображение клеток дрожжей, отсутствует масштабная линейка. В подписи к рисунку 20, дублируется объяснение, представленное в тексте, что несколько загромождает восприятие соответствующего подраздела диссертационной работы.

Тем не менее, указанные замечания не носят принципиального характера и не оказывают влияния на общую высокую оценку представленной диссертационной работы Серпионова Генриха Владимировича. Автором выполнено значительное по объему оригинальное научное исследование, а полученные в ходе данной работы результаты тщательно проанализированы, обобщены и не вызывают сомнений. В рамках поставленной работа Серпионова Генриха

Владимировича является завершенным научным исследованием с высокой степенью научной новизны и заслуживает наивысшей оценки.

### Заключение по работе

Диссертационная работа Серпионова Генриха Владимировича «Роль взаимодействий между амилоидогенными белками в возникновении и токсичности амилоидов гентингина у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*» по поставленным задачам, уровню их решения и научной новизне полученных результатов полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», введенного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), и ее автор, Серпионов Генрих Владимирович, заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Диссертационная работа Серпионова Генриха Владимировича «Роль взаимодействий между амилоидогенными белками в возникновении и токсичности амилоидов гентингина у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия, заслушана, отзыв на нее заслушан и утвержден на объединенном научном семинаре профильных лабораторий ИМБ РАН по специальности 03-01-03 – Молекулярная биология 14 января 2019 г., протокол №1.

Отзыв на диссертационную работу Серпионова Г.В. подготовлен ведущим научным сотрудником ИМБ РАН Митькевичем Владимиром Александровичем.

Кандидат химических наук  
по специальности 03-01-03 – Молекулярная биология,  
ведущий научный сотрудник Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки  
Института молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН, лаборатория конформационного  
полиморфизма белков в норме и патологии

Митькевич В.А.

119991, г. Москва, ул. Вавилова 32,  
Рабочий телефон +7(499)1359824  
e-mail: mitkevich@gmail.com

Подпись Митькевича В.А. заверяю  
Ученый секретарь ИМБ РАН, к.в.н.



Бочаров А.А.