

## ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук Амахина Дмитрия Валерьевича на диссертационную работу Гиголаева Андрея Михайловича «Молекулярные основы селективности пептидных поровых блокаторов калиевых каналов», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9.

Биоорганическая химия

Потенциал-чувствительные калиевые каналы представляют собой важный объект исследований, поскольку они выполняют многие физиологические функции в организме человека и других млекопитающих. Так, например, они задействованы в реполяризации мембраны во время генерации потенциала действия. Отдельные изоформы этих каналов экспрессируются не только в возбудимых клетках. Так, канал Kv1.3 экспрессируется также в Т-лимфоцитах, где участвует в пролиферации этих клеток. Для изучения потенциал-чувствительных калиевых каналов необходимы селективные лиганды, которые способны узнавать отдельные изоформы. Однако на данный момент существуют сложности в том, чтобы получать такие соединения с направленной селективностью. Соответственно, разработка методов направленного получения селективных лигандов представляет собой актуальную задачу, поскольку селективные соединения могут быть использованы для изучения каналов в норме и патологии.

Структура диссертации включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов, используемых в работе, описание результатов и выводы. Введение к диссертации довольно сжатое, и в нем отсутствуют общепринятые разделы «Актуальность работы», «Теоретическое и практическое значение работы», «Положения, выносимые на защиту» и т.п., что можно отнести к формальным недостаткам работы. Литературный обзор объемный и обстоятельно погружает читателя в исследуемую проблему. Хорошее владение литературными источниками свидетельствует о высокой теоретической подготовке и научной эрудиции автора. В разделе, посвященном методике исследования, четко и подробно описаны все экспериментальные процедуры. Гиголаевым А.М. Освоены сложные современные методы получения и исследования рекомбинантных пептидов. Изложение результатов последовательное и четкое, а выводы представляются логичными и обоснованными. Для каждой из рассматриваемых изоформ калиевых каналов разработан наиболее селективный поровый блокатор.

При прочтении диссертации у меня возникли следующие вопросы и замечания:

1) Как уже упоминалось выше, актуальность и мотивация работы раскрыты достаточно слабо. В коротком введении приведен только один аргумент, иллюстрирующий

актуальность работы, который упрощенно можно сформулировать так: Kv1 каналы очень важны, поэтому их надо изучать. Хотелось бы, чтобы диссертант раскрыл эту мысль более подробно и привел реальные примеры того, зачем практикующим электрофизиологам могут понадобиться разработанные в ходе выполнения работы пептидные блокаторы. Есть ли у Kv1-каналов какая-то особенная роль в генерации потенциалов действия нейронам, отличающая их от других потенциал-зависимых каналов? Приведите пример того, как ионные каналы исследуемых типов влияют на особенности генерации потенциалов действия в нейронах.

2) На стр. 54 приводятся значения потенциалов реверсии для калиевых токов. Не ясно почему они имеют столь низкие значения (-5 - -7 мВ). Почему в экспрессирующей системе был такой слабый трансмембранный градиент ионов калия, ведь в большинстве клеток, экспрессирующих Kv, имеется сильный трансмембранный градиент концентрации этого иона? Зачем вообще анализировалось изменение потенциала реверсии под действием MeKTx11-1 (для других пептидов этого не делалось)? Вы подозреваете возможность изменения ионной селективности канала под действием пептида? Будут ли полученные Вами выводы о характере взаимодействия пептида с каналом справедливы и в случае наличия сильного трансмембранного градиента концентрации ионов калия?

3) На стр. 60 утверждается, что охарактеризованные пептидные блокаторы могут быть применены для коррекции нарушений, «связанных с мутациями, которые приводят к увеличению проводимости каналов». Можете ли Вы привести пример подобных мутаций и связанных с ними патологий?

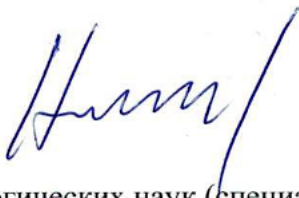
4) На рис. 24Б (стр. 76) кривые доза-эффект для Kv 1.2 и 1.3 явно имеют отличающийся наклон, что указывает об отличающемся коэффициенте Хилла. На рис. 32В (стр. 90), и некоторых других – аналогично (разный коэффициент Хилла для разных каналов). Не могли бы Вы прокомментировать этот результат?

5) Ни в одном описанном эксперименте Вы не тестировали разрабатываемые пептиды на представителях других подсемейств Kv. Не могло ли получиться, что, внося модификации в структуру пептида Вы могли снизить их селективность относительно Kv1, добавив способность блокировать потенциал-зависимые калиевые каналы других подсемейств?

В целом, работа Гиголаева Андеря Михайловича является современной, актуальной, а полученные диссертантом результаты вносят существенный вклад в понимание механизмов блокады потенциал-зависимых калиевых каналов пептидными лигандами. Разработанные пептидные блокаторы могут существенно расширить арсенал

фармакологических агентов, используемых электрофизиологами для исследования механизмов генерации потенциалов действия нейронами. Приведенные замечания носят уточняющий характер, не подвергают сомнению сделанные по результатам экспериментов выводы и не снижают общего положительного впечатления от работы. Диссертационная работа Гиголаева Андрея Михайловича «Молекулярные основы селективности пептидных поровых блокаторов калиевых каналов», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия, соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. № 1539; 26.09.2022 г. № 1690; 26.01.2023 г. № 101), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. — Биоорганическая химия.

**Официальный оппонент**



**Амахин Дмитрий Валерьевич**

кандидат биологических наук (специальность — 03.03.01 Физиология)

ведущий научный сотрудник лаборатории

молекулярных механизмов нейронных взаимодействий

Федерального государственного бюджетного

учреждения науки Института эволюционной физиологии и

биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук

13. ноября .2023 г.

**Контактные данные**

Телефон: +7(952)2402947; E-mail: [dmitry.amakhin@gmail.com](mailto:dmitry.amakhin@gmail.com);

Почтовый адрес: 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44



Подпись руки *Д.В. Амахина*  
Сверю  
за Канцелярией  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Института эволюционной  
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова  
Российской академии наук  
*13.11.2023*