

## ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора физико-математических наук, члена-корреспондента Российской академии наук Шайтана Алексея Константиновича 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**

**Актуальность темы диссертационной работы.** Диссертационная работа Гиголаева Андрея Михайловича «Молекулярные основы селективности пептидных поровых блокаторов калиевых каналов» посвящена проблеме создания селективных лигандов потенциал-чувствительных калиевых каналов ( $K_v$ -каналы) и поиску молекулярных детерминант, обеспечивающих такую селективность. Селективные лиганды в перспективе могут быть использованы как инструменты для изучения отдельных изоформ потенциал-чувствительных калиевых каналов. Они представляют собой перспективные объекты исследования, поскольку они выполняют многие физиологические функции, а также могут быть перспективными фармакологическими мишенями из-за связи с некоторыми заболеваниями.

**Новизна и научная значимость.** Потенциал-чувствительные калиевые каналы представляют собой крупнейшее семейство ионных каналов в геноме человека, кодирующее 40 потенциал-чувствительных каналов  $K^+$ , которые выполняют разнообразные физиологические функции в человеческом организме. В диссертационной работе Гиголаева А.М. уделено внимание изучению подсемейства  $K_v1$ , которое может быть представлено как гомо- так и гетеромерными каналами. Для изучения этих каналов необходимы селективные лиганды, которые могут узнавать отдельные изоформы. В настоящее время известен ряд таких селективных лигандов, однако они либо не обладают достаточной аффинностью, либо селективностью. Поэтому получение селективных лигандов имеет важное значение, например для изучения каналов, мутации в которых приводят к возникновению различных заболеваний.

**Структура и содержание диссертации.** Структура диссертационной работы является классической и состоит из следующих разделов: «Список сокращений», «Введение», «Цель и задачи», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Выводы», «Благодарности», «Список

литературы», «Приложение». Работа изложена на 122 страницах, содержит 36 рисунков и 15 таблиц, список литературы содержит ссылки на 192 источника.

Работа написана хорошим языком, легко читается и практически не содержит опечаток.

В «литературном обзоре» описаны механизмы работы и структура катионных калиевых каналов ( $K^+$ -каналы), в частности, особое внимание уделено  $K_V$ -каналам. Также автор рассматривает разные свойства токсинов скорпиона и их воздействие на калиевые каналы. Отдельно уделено внимание мутациям генов, которые возникают в  $K_V$ -каналах. «Литературный обзор» содержит ссылки на 175 источников.

Раздел «Материалы и методы» содержит данные о проведенных экспериментах с описанием современных молекулярно-биологических методик, которые были использованы автором во время выполнения диссертационной работы. В этом разделе подробно описаны использованные в работе вещества, методики приготовления образцов, оборудование, перечислено программное обеспечение, с помощью которого проводился анализ экспериментальных данных. Стоит отметить, что в работе использован широкий спектр молекулярно-биологических, биохимических и генно-инженерных методов исследования, такие как, полимеразная цепная реакция, рестрикция, лигирование, гетерологическая экспрессия, масс-спектрометрия, а также разные компьютерные методы.

Раздел «Результаты и обсуждение» можно логически разделить на три части. В первой части приведены результаты исследования характеристик яда скорпиона *Mesobuthus eupeus*, включая выделение токсинов этого яда – MeKTx11-1 и 3. Вторая логическая часть заключается в построении компьютерных моделей токсинов MeKTx11-1 и 3, а также моделей взаимодействия этих токсинов с  $K_V$ -каналами (KV1.1–1.3 и 1.6). В третьей логической части была проведена объемная работа по получению селективных лигандов (MeKTx13-3\_AAAR, MeKTx13-3\_RMRH и ChTx\_M29I) с помощью экспериментальных, компьютерных методов и анализа литературных данных.

**Достоверность результатов.** Все части диссертационной работы являются оригинальными, результаты опубликованы автором в виде шести научных статей в изданиях из списка ВАК, включая журналы, входящие в первый квартиль (Q1) – *Neuropharmacology* (IF 5,3), *Frontiers in Pharmacology* (IF 5,6), *Biophysical Journal* (IF 3,7), *Journal of Biological Chemistry* (IF 5,5). Также результаты диссертации были представлены на четырех научных конференциях. При выполнении работы автор проводил необходимые

контрольные эксперименты и повторы, что обеспечивает достоверность результатов.

Текст диссертации и представленные в нем данные полностью обосновывают сделанные в работе выводы и выносимые на защиту положения. Представленная работа является фундаментальным исследованием и производит хорошее впечатление.

В то же время к работе можно выдвинуть ряд замечаний и пожеланий:

- 1) На рисунке 1 приведено филогенетическое дерево, но не указаны параметры его построения, в частности модель замен, использованная для оценки филогенетического расстояния и алгоритм построения дерева (максимальное правдоподобие, максимальная парсимония и т.д.)
- 2) В оформлении автореферата и текста диссертации автору следовало бы более строго следовать рекомендациям советующего ГОСТ, в частности, в общей характеристике работы более подробно указать степень разработанности темы исследования, методологию исследования, степень достоверности результатов, в заключении указать рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы, в более общем виде сформулировать положения, выносимые на защиту.
- 3) Текст диссертации написан местами очень сухим языком и не всегда легок для понимания, часто используется пассивный залог, в результате не всегда понятно, на основе чего делаются те или иные утверждения. Пример со страницы 63 «В свою очередь, анализ данных по мутагенезу VmКТХ позволил нам предложить новый вариант. Замена D33H в последовательности VmКТХ приводит к увеличению активности по отношению к каналу KV1.3. Производное VmКТХ, названное ADWX-1, содержит остатки R11 и H33 и блокирует KV в субнаномолярных концентрациях.» В каждом предложении не хватает каких-то слов, например, объясняющих – вариант чего позволил предложить анализ?, к увеличению активности чего приводит замена? Производное -- это пептид?
- 4) В представленной работе автор выполнял лишь часть исследований. В частности, молекулярное моделирование проводилось коллегами автора. В то же время первая цель диссертации связана исключительно с моделированием. На мой взгляд цели лучше формулировать так, чтобы их достижение максимально зависело от работы самого автора диссертационного исследования.

Несмотря на имеющиеся замечания, считаю, что 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**

Шайтан Алексей Константинович  
доктор физико-математических наук  
(специальность — 03.01.09 — Математическая биология, биоинформатика),  
член-корреспондент РАН,  
доцент кафедры биоинженерии биологического факультета  
Федерального государственного бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Московский государственный университет  
имени М. В. Ломоносова»

16. ноября .2023 г.

**Контактные данные**

Телефон: +7(495) 939-57-38; E-mail: shaytan\_ak@mail.bio.msu.ru;

Почтовый адрес: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

Подпись сотрудника биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова  
А.К. Шайтана удостоверяю:

Заместитель декана биологического факультета

МГУ имени М.В. Ломоносова, профессор, д.б.н.



А.М. Рубцов