

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Никифоровой Алёны Алексеевны на тему «**Влияние белок-лигандных взаимодействий на процесс фибриллообразования ряда белков**»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.4. Физическая химия

Актуальность темы исследования

Амилоидные фибриллы – упорядоченные агрегаты белков – привлекают внимание исследователей своей ролью в патогенезе амилоидозов, физиологическими функциями и потенциалом в качестве биоматериалов. Однако механизмы их образования и регуляции лигандами остаются нераскрытыми: отсутствуют систематические данные о связи аффинности лигандов с их влиянием на агрегацию, а кинетические модели редко учитывают белок-лигандные взаимодействия. Кроме того, отсутствуют надежные методики количественной оценки связывания соединений с фибриллами.

Диссертационная работа Никифоровой А.А. направлена на выявление закономерностей влияния лигандов различной природы на кинетику и равновесие фибриллообразования ряда белков. Полученные результаты имеют как теоретическое значение для понимания механизмов агрегации белков, так и практическую ценность для разработки антиамилоидных терапевтических агентов, диагностических средств визуализации амилоидных отложений и новых материалов на основе фибрилл белков. В связи с этим тема исследования является, несомненно, **актуальной**. Об актуальности темы исследования свидетельствует и его финансовая поддержка грантами РФФИ и РНФ.

Оформление, структура и содержание диссертации. Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации

Оформление диссертации и автореферата выполнено в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста, построена традиционно и включает введение, три главы, заключение, список условных обозначений и сокращений и список литературы, включающий 272 источника. Работа содержит 54 рисунка и 10 таблиц.

Введение включает в себя все пункты, необходимые по ГОСТ Р 7.0.11-2011.

Глава 1 – литературно-аналитический обзор, рассматривающий историю формирования представлений об амилоидных фибриллах, структуру амилоидных фибрилл, амилоидогенные белки, фибриллообразование амилоидогенных белков, кинетические модели фибриллообразования, влияние лигандов на фибриллообразование и особенности структуры, свойств и фибриллообразования исследуемых белков. Глава 1 завершается критическим анализом пробелов в рассматриваемой области исследования и обоснованием в связи с этим цели и задач диссертации.

Глава 2 – экспериментальная часть, содержащая описание объектов исследования, методик приготовления растворов и получения необходимых экспериментальных данных.

Глава 3 посвящена описанию решений поставленных задач и обсуждению результатов.

Заключение содержит шесть выводов, соответствующих поставленным задачам и защищаемым положениям, а также намечает перспективы дальнейших исследований.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Главная научная новизна исследования заключается в том, что получен массив новых экспериментальных и теоретических данных, расширяющих и существенно дополняющих представления о кинетике фибриллообразования и термостабильности белков.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность экспериментальных данных обеспечена применением комплекса взаимодополняющих современных методов (дифференциальная сканирующая калориметрия, спектрофлуориметрия, УФ-спектрофотометрия, спектрометрия кругового дихроизма, атомно-силовая микроскопия), воспроизводимостью данных (не менее трех измерений), корректной статистической обработкой. Молекулярный докинг логично дополняет экспериментальные данные. Поэтому сформулированные научные положения, выводы и рекомендации являются **обоснованными** и **достоверными**.

Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций диссертации

Значимость для области науки, представленной пунктами 2, 9 и 10 паспорта специальности 1.4.4. Физическая химия, выводов и рекомендаций диссертации заключается в развитии представлений о механизмах фибриллообразования белков. Предложенная кинетическая

модель для альбуминов, учитывающая связывание лигандов, вносит вклад в теорию нуклеационно-зависимой агрегации. Для α -лактальбумина показана двойственная роль катионов металлов, а для лизоцима продемонстрирован механизм ингибирования через связывание полисахарида с поверхностью фибрилл.

Значимость для практики определяется возможностью практического использования результатов и разработанной методики определения констант связывания лигандов с амилоидными фибриллами для скрининга ингибиторов фибриллообразования, оценки аффинности диагностических зондов к фибриллам, прогнозирования влияния ионов металлов на агрегацию белков. Методика определения констант связывания лигандов с амилоидными фибриллами доступна для внедрения в лабораторную практику. Материалы диссертации могут использоваться в университетских базовых и специализированных курсах бакалавриата, магистратуры и аспирантуры по физической химии.

Полнота изложения основных результатов диссертации в опубликованных трудах

Результаты диссертации прекрасно опубликованы. По материалам диссертационного исследования соискателем опубликованы 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, и 7 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях. Публикации полностью отражают содержание диссертации.

При общей высокой оценке работы возник **ряд замечаний и вопросов**, не затрагивающих основные научные положения.

1. Присутствуют два пункта 3.1.3 с разными названиями.

2. В предложенной кинетической модели предполагается, что лимитирующей стадией является переход развернутой формы белка в конформацию, способную к агрегации, а остальные стадии полагаются быстрыми. Однако для некоторых белков (в частности, для лизоцима) существенную роль играет вторичная нуклеация. Насколько чувствительны полученные значения констант k_1 и k_{-1} к возможному включению в модель процессов вторичной нуклеации или фрагментации? Проводилось ли тестирование альтернативных кинетических схем, например, с учетом автокаталитического роста, и если нет, то каковы основания для выбора именно предложенной модели?

3. Для описания кинетических кривых используется уравнение первого порядка (п. 3.1.3, с. 86-101). Однако в п. 3.2 (α -лактальбумин) кривые имеют выраженный сигмоидальный вид, и для них определяются τ_{lag} и τ_{50} по касательной к точке перегиба. Является ли такая обработка единственно

возможной, и не следовало бы применить единый формализм (например, логистическую модель) для всех белков, чтобы унифицировать сравнение параметров? Кроме того, в диссертации не приводятся первичные данные по изменению конверсии со временем (например, в виде таблиц), что затрудняет проверку расчетов начальных скоростей и периодов полупревращения.

4. Доля денатурированной формы белка α рассчитывается по отношению энтальпий, интегрированных до температуры инкубирования. Однако при наличии нескольких переходов (например, для альбуминов наблюдаются два пика) корректно ли использовать суммарную энтальпию? Также в работе не обсуждается изменение теплоемкости при денатурации (ΔC_p), которая может существенно влиять на температурную зависимость α , особенно при различии температур денатурации при использовании разных лигандов.

5. Предложенная конкурентная методика определения констант связывания белковых фибрилл с лигандами основана на допущении, что лиганд и тиофлавин Т связываются с одними и теми же центрами на фибриллах. Однако для фибрилл лизоцима известно о существовании нескольких типов центров связывания (в том числе для тиофлавина Т). Может ли наблюдаться неконкурентное вытеснение или аллостерический эффект, искажающий результаты? Проводилась ли проверка методики на лигандах с известными значениями константы диссоциации, определенными независимыми методами (например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс), чтобы подтвердить ее валидность?

6. В п. 3.6 показано отсутствие корреляции констант связывания лигандов с параметром липофильности $\log P$. Однако не проведен систематический QSAR-анализ с использованием других дескрипторов. Было бы интересно узнать, планируется ли в дальнейшем создание прогностической модели на основе накопленного массива данных, и какие дескрипторы автор считает наиболее перспективными.

Заключение

Диссертационная работа Никифоровой Алёны Алексеевны «Влияние белок-лигандных взаимодействий на процесс фибриллообразования ряда белков» по своей актуальности, научной новизне, достоверности результатов, практической и теоретической значимости, личному вкладу автора и уровню публикаций является завершённым научным исследованием, результаты которого вносят существенный вклад в понимание механизмов амилоидной агрегации глобулярных белков и ее регуляции лигандами различной природы, тем самым решая задачу разработки подходов к созданию ингибиторов фибриллообразования, диагностических агентов для визуализации амилоидных отложений и новых биоматериалов на основе фибрилл белков.

Результаты диссертации, представляющие решение этой задачи, значимы для развития области физической химии, представленной в паспорте специальности 1.4.4. Физическая химия пунктами 2, 9 и 10.

Работа полностью соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства РФ №842 от 24.09.2013, в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации, Никифорова Алёна Алексеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

Официальный оппонент:

Доктор химических наук
(1.4.7. (02.00.06) Высокомолекулярные соединения),
профессор (1.4.7 (02.00.04) Высокомолекулярные соединения),
заведующий кафедрой общей химической технологии
ФГБОУ ВО «Казанский национальный
исследовательский технологический
университет»

Улитин Николай Викторович

Тел.: +7 (843) 231-41-62 (раб.), +7 (927) 034-10-89 (моб.).
Электронная почта: UlitinNV@corp.knrtu.ru, n.v.ulitin@mail.ru

04.09.2026

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

Почтовый адрес: 420015, республика Татарстан, г. Казань, ул. Карла Маркса,
д. 68.

Тел.: +7 (843) 231-42-16. Сайт: <https://www.kstu.ru>. Электронная почта:
office@kstu.ru