ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Дромарецького Андрія Валентиновича

«Порушення Ca^{2+} -залежної сигналізації гіпокальцину як механізм первинної аутосомно-рецесивної ізольованої дистонії»

подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

за спеціальністю 03.00.02 «Біофізика

Дисертаційна робота присвячена дослідженню властивостей Ca^{2+}-задежної сигналізації, опосередкованої гіпокальцином нейронів гіпокампу щурів, з метою виявлення механізмів, які призводять до неврологічного синдрому порушень руху, дистонії, що виникає унаслідок появи точкових мутацій в позиціях 71 та 75 первинної структури гіпокальцину.

Проблеми, які вирішуються у цій роботі, є актуальними для біофізики, біохімії, молекулярної біології, генетики та інших галузей природничих наук, як медицина (генетична терапія) через спектр патологій, що можуть бути пов'язані з порушенням струму повільної пост-гіперполяризації плазматичної мембрани нейронів та новітніми чиниками впливу на його відновлення. Серед останніх пошукач окремо виділяє трансфекцію нейронів гіпокампу генетичним матеріалом екзогенного немутованого гіпокальцину з метою збільшення кількості цього білка у нейронах аномально збуджених низхідних шляхів-регуляторів роботи скелетної мускулатури, що може відновити повільну постгіпер-поляризацію мембран нейронів і нормальний тонус мускулатури хворих на дистонію.

Результати дослідження також збагачують сучасну наукову біофізичну методологію завдяки розробленому пошукачем методу вимірювання концентрації екзогенно-експресованого флуоресцентно-міченого гіпокальцину та його мутантних похідних в нейронах. Розроблений метод також можна впроваджувати в молекулярно-біологічних та генетичних дослідженнях різних типів в біології та медицині з метою вимірювання кількості різних екзогенних протеїнів синтезованих в клітинах шляхом трансфекції.

Інші, використані у роботі методи, є досить різноманітними (клітинно-біологічні, флуоресцентно-мікроскопічні, електрофізіологічні, молекулярно-генетичні, загально-фізіологічні, модельно-патофізіологічні, математично-статистичні тощо) та цілком адекватними поставленій меті дослідження, а одержані результати є статистично підтвердженими, чим дисертант засвідчує високий рівень його професійного вишколу.

У результаті проведених досліджень показано, що в умовах співмірної з ендогенним гіпокальцином концентрації екзогенно-експресованого в нейронах гіпокальцина або його 2-х дистонічних мутантів (T71N та N75K) N75K, на відміну від власне гіпокальцину та T71N, не може транслокуватись до плазматичної мембрани дендритних компартментів нейрона у відповідь на

фізіологічно релевантні типи активності нейронів, що робить мутант нездатним викликати струм повільної постгіпер-поляризації чим підвищується збудливість нейронів та, ймовірно, пояснюються симптоми, характерні для первинної дистонії типу DYT2 (порушення руху хворого унаслідок тривалих та повторюваних скорочень м'язів).
Окрім безпосередньо витікаючих із роботи висновків стосовно можливостей вирішення ряду проблем, пов'язаних із ускладненнями, які викликає DYT2, практичне значення роботи також полягає у розвитку розуміння механізму виникнення цього захворювання, пов'язаного з порушенням Ca^{2+} -залежної сигналізації гіпокальцину у нейронах гіпокампу та керування ним, що звужує область для пошуку генетичних порушень, які призводять до цієї хвороби.

Висновки сформульовані чітко та логічно випливають із результатів досліджень. Основні положення дисертаційної роботи, які викладені у тексті дисертації співпадають з такими у змісті автореферату. Наукову цінність результатів досліджень відображено достатньою кількістю публікацій (5 статей у вітчизняних і міжнародних фахових журналах) та апробовано на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях.

Принципових зауважень наукового характеру до результатів роботи немає. Однак, є побажання: 1) конкретніше виражати суть роботи у її назві, оскільки надане формулювання «Порушення Ca^{2+}-залежної сигналізації гіпокальцину як механізм первинної аутосомно-рецесивної ізольованої дистонії» за умов того, що в основному у роботі досліджувався вплив гіпокальцину та його дистонічних мутантів (T71N та N75K) на Ca^{2+}-залежний механізм утворення повільного струму постгіпер-поляризації нейрона не досить чітко відображає зміст зробленого. Тому, назву дисертації доцільніше було би замінити, наприклад, на «Визначення впливу присутніх при первинній дистонії мутацій гіпокальцину на повільну постгіпер-поляризацію мембрани нейрону»; 2) серед різних чинників впливу на місцезнаходження та флуоресценцію мічених досліджуваних протеїнів, гіпокальцину та його мутантних похідних, згаданих у тексті дисертації у розділі 3.1 Результатів "Вимір концентрації експресованих екзогенних білків" не повною мірою аналізуються властивості самих флуоресцентних білків, використаних для мічення. Наприклад у роботі не враховано, що флуоресцентні білки YFP або CFP є мутантними похідними початкової форми – флуоресцентного протеїну GFP медузи *Aequorea Victoria*, унаслідок чого усі ці білки зберігають консервативну ділянку, утворену листком бета-складчастостей, які не тільки екранують флуорофор посередені від гасіння молекулами розчинника, але також утворюють бета-барильце, спроможне утворювати пори в ліпідному бішарі плазматичної мембрани, подібно будь-якому із групи пора-формуючих токсинів бета-типу, наприклад перфінголізину О.
3) у списку літератури майже відсутні посилання на роботи вітчизняних авторів, що ставить під сумнів наявність в нашій країні школи, необхідної

для такого складного типу досліджень, хоча згідно з інформацією, поданою в Авторефераті «...Робота виконана у відділі біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України …»; 4) незважаючи на Перелік умовних скорочень (стр. 13 дисертації) на стр. 17 дисертації автор надає абревіатуру PFT без попереднього згадування в тексті або списку скорочень.

Виходячи з актуальності, об'єму та рівня досліджень, наукової новизни результатів, теоретичної та практичної цінності отриманих даних, об'єктивності та обґрунтованості висновків та оформлення дисертаційна робота Дромарецького Андрія Валентиновича «Порушення Ca^{2+}-залежної сигналізації гіпокальцину як механізм первинної аутосомно-рецесивної ізольованої дистонії» повністю відповідає вимогам «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук» затвердженого постановою Кабінету міністрів України №1197 від 17.11.2021 зі змінами внесеними згідно з Постановою Кабінету міністрів України № 502 від 19.05.2023, та Наказів МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» і № 1359 від 13.12.2021 «Про затвердження Положення про спеціалізовану вчену раду з присудження наукового ступеня доктора наук», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальності 03.00.02 - «біофізика».

Офіційний опонент
провідний науковий співробітник відділу нейрохімії
Інституту біохімії імені О.В. Палладіна НАН України,
д.б.н, с.н.с.

Шатурський О.Я.

Підпис Шатурського О.Я.
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна
національної академії наук України
"27" 02 2025 р.

Національна академія наук України
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна
Ідентифікаційний код 05417288
м. Київ