

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Кузнецова Виктора Петровича **«Генерация эндогенного электрического потенциала в новой модельной системе»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 – математическая биология, биоинформатика.

Диссертация Виктора Кузнецова посвящена изучению электрофизиологических особенностей ритмического процесса в клетках кишечника нематод, а также эволюционному и биоинформатическому исследованию мембранных белков, вовлеченных в генерацию дефекационной моторной программы *Caenorhabditis elegans*. В работе впервые в мировой литературе проведена регистрация ритмических изменений мембранного потенциала клеток кишечника нематод при помощи системы внутриклеточной регистрации, состоящей из нескольких микроэлектродов. Также показано, что в клетках кишечника нематоды пороговый распространяющийся потенциал действия гиперполяризует мембрану, и таким образом имеет противоположную полярность к большинству известных генераторов потенциалов действия возбудимых клеток. Создана функциональная модель изменения мембранного потенциала клеток кишечника нематоды во времени, представляющая минимально необходимое количество ионных каналов для наблюдаемых изменений. Кроме того, на основе биоинформатического анализа представлены наиболее вероятные белковые структуры, ответственные за генерацию и распространение изменения мембранного потенциала в клетках кишечника нематоды.

Работа изложена на 139 страницах машинописного текста и включает 28 рисунков, список литературы состоит из 144 источников. Структура работы построена по традиционной схеме, состоит из введения, обзора литературы, пяти глав с результатами и обсуждением, материалов и методов исследования, заключения, выводов и списка литературы. Изложены цель, задачи, актуальность темы, новизна, научная и практическая значимость работы. Обзор литературы анализирует классические и современные данные о механизмах передачи ритмических сигналов и функциях энтодермальных клеток кишечника у нематод. Главы с результатами структурированы, сопоставляют данные исследования с литературой и приводят выводы, соответствующие целям и задачам исследования. Материалы и методы содержат информацию об объектах, описание экспериментальных процедур, описание использованных в работе методов статистической обработки результатов измерений и методов биоинформатического анализа данных

секвенирования РНК одиночных клеток, а также методов эволюционного анализа данных биоинформатики. Описано и аргументировано применение использованных в работе фармакологических агентов. Содержание диссертации согласуется с авторефератом и опубликованными статьями, полностью отражающими суть работы. Все выводы основаны на новых экспериментальных данных, полученных в рамках исследования. Автореферат отражает содержание диссертации и отвечает требованиям ВАК РФ.

Актуальность проблем, решаемых в работе связана с необходимостью понимания многообразия механизмов работы молекулярных комплексов, выполняющих конкретные функциональные задачи. Важность обуславливается, в частности тем, что объект исследования имеет значимый биотехнологический потенциал. *H. megidis* таксономически родственна нематоде *C. elegans* – одной из ценнейших биологических модельных систем, позволяющих сочетать генетические, молекулярно-биологические и физиологические исследования. Ритмическая моторная программа этой нематоды происходит автономно, практически без участия нервной системы. Используемый автором объект *H. megidis* имеет клетки большего размера, чем *C. elegans*, что существенно облегчает проведение экспериментов на отдельных клетках с применением микроэлектродной техники, что помимо представленных исследований предоставляет возможность последующего использования этой нематоды в качестве объекта для электрофизиологии. Проведенные электрофизиологические исследования обновляют и создают более полную картину знаний об исследуемой минутной ритмике. Для изучения эволюционного аспекта наличия дефекационной моторной программы у разных нематод, в том числе у эволюционного предка важно исследовать наличие генов, гомологичных к тем, которые согласно литературным данным важны для работы механизма. Таким образом, исследования как электрофизиологических, так и эволюционных аспектов представляются актуальными и научно-значимыми. Исследования видов, обладающих потенциалом для использования в биологических методах защиты урожайности, также способствуют разработке и совершенствованию стратегий контроля вредителей, и повышению устойчивости растений к насекомым-вредителям.

Диссертация соискателя представляет собой важное фундаментальное законченное исследование с существенным научным и практическим значением. Работа выделяется оригинальностью, и многие из полученных результатов впервые описаны в мировой научной литературе. Полученные выводы могут найти применение как в фундаментальной научной и образовательной, так и практической деятельности.

На защиту выносятся научные положения, основанные на анализе достаточного количества оригинальных экспериментальных данных, полученных в электрофизиологических экспериментах и методами биоинформатического анализа. Применённые методики были использованы корректно. Надёжность полученных данных и обоснованность выводов не вызывают сомнений. Все выводы логично вытекают из поставленных задач. Высокий уровень работы подтверждается тем, что ключевые результаты были опубликованы в журналах *Scientific Reports*, *BMC Evolutionary Biology* и *Russian Journal of Nematology*. Это свидетельствует о высокой оригинальности и качестве работ. Всего по результатам работы опубликовано 7 статей и представлено 9 тезисов на международных конференциях.

Несмотря на высокое качество работы, следует отметить некоторые недостатки, связанные как с оформлением, так и с сутью работы, в частности необходимо отметить следующее.

1. Хотя текст написан грамотно, стилистически корректно, в нём встречаются отдельные опечатки. Некоторые из приведенных сокращений не раскрываются как в списке сокращений, так по ходу текста, хотя их значение обычно ясно из контекста. Те же замечания относятся и к автореферату диссертации.

2. Утверждается, что измеряется сопротивление мембраны, в то время как реально измеряется входное сопротивление клетки.

3. Предлагаемые потенциальные участники дефекационной моторной программы напрашиваются на наличие экспериментальной проверки опытами с различными фармакологическими агентами, блокаторами и активаторами каналов, а также опытами с измененной концентрацией ионов внеклеточного раствора.

4. В соответствии с современными биофизическими стандартами Предложенная в работе функциональная модель должна быть трансформирована в биофизическую (в частности, математическую) модель наблюдаемых явлений, что может обеспечить более глубокий анализ исследуемых процессов.

Отмеченные недостатки, несмотря на их наличие, не влияют на высокое качество проведённого исследования и не оказывают влияния на ключевые результаты, подробно описанные в ходе работы. Полученные данные демонстрируют оригинальность, высокую степень научной новизны и значительную практическую ценность, что подчёркивает важность выполненной работы. Все эти аспекты свидетельствуют о том, что соискатель сформировался как зрелый и компетентный исследователь, способный

самостоятельно формулировать научные гипотезы, разрабатывать эффективные подходы к их проверке и решать сложные задачи в области электрофизиологии, биоинформатики и математических методов в биологии.

Диссертация Кузнецова Виктора Петровича полностью соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении учёных степеней, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с учётом изменений, внесённых постановлениями №335 от 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., №650 от 29.05.2017г., №1024 от 28.08.2017г., №1168 от 01.10.2018г.). Таким образом, Кузнецов Виктор Петрович заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 – «Математическая биология, биоинформатика».

Официальный оппонент

Доктор физико-математических наук, профессор,

Главный научный сотрудник, руководитель отдела нейроинформатики

Центра оптико-нейронных технологий

ФГУ ФНЦ НИИСИ РАН

В.Л. Дунин-Барковский

7 ноября 2024 г.

117218, Москва, Нахимовский просп., 36, к.1

e-mail: wldb@niisi.ras.ru

