ОТЗЫВ
на автореферат диссертации Василевского Александра Александровича «Токсины паукообразных: многообразие, фундаментальные и прикладные аспекты»,
представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 «Биоорганическая химия»

Диссертационная работа А.А. Василевского посвящена исследованию структурного и функционального разнообразия токсинов паукообразных, установлению молекулярных механизмов их действия и созданию на их основе соединений с заданными свойствами. Актуальность этого направления определяется потребностью в селективных инструментах исследования ионных каналов и рецепторов, а также возможностью использования природных токсинов в качестве структурной основы для разработки лекарственных средств.

Работа объединяет поиск и выделение природных соединений, установление их первичной и пространственной структуры, функциональную характеристику и рациональную модификацию. Такой подход позволяет перейти от описания компонентов яда к выяснению закономерностей молекулярного узнавания и целенаправленному конструированию биологически активных веществ. Именно эта связь между химической структурой и функцией придает исследованию целостность, несмотря на значительное разнообразие изученных объектов.

Представленный в автореферате материал свидетельствует о большом объеме экспериментальной работы. Исследован состав яда шести видов пауков и двух видов скорпионов, установлены последовательности нескольких сотен пептидов, охарактеризована активность нескольких десятков токсинов. Разработаны системы получения рекомбинантных пептидов и их аналогов, обеспечивающие возможность проведения структурных и функциональных исследований. Сочетание хроматографических, масс-спектрометрических и молекулярно-биологических методов с ЯМР-спектроскопией, криоэлектронной микроскопией, электрофизиологией и молекулярным моделированием обеспечивает убедительную экспериментальную основу основных выводов.

Существенным результатом является разработка подходов к изменению селективности пептидных блокаторов калиевых каналов. На основе анализа предполагаемых межмолекулярных контактов получены производные токсинов с измененными профилями активности в отношении отдельных изоформ Kv. Особого внимания заслуживает использование защитного пептида растений из семейства α-гарпининов в качестве каркаса для создания блокаторов Kv1.3 и Kv1.6. Эти исследования показывают, что функциональные свойства пептида могут быть направленно сформированы на основе структурного каркаса, исходно не обладающего требуемой активностью. Создание базы данных Kalium дополняет экспериментальную часть работы систематизацией сведений о полипептидных лигандах калиевых каналов.

Важное фундаментальное значение имеют исследования токсинов, взаимодействующих с потенциал-чувствительными натриевыми каналами.

Определение потенциал-чувствительного домена I повтора Nav1.4 в качестве мишени Hm-3 и обнаружение способности этого токсина подавлять патологические ω-токи расширяют представления о возможностях фармакологического воздействия на сенсоры потенциала. Анализ структурной организации α-токсинов скорпионов и экспериментальное изменение их избирательности к каналам млекопитающих и насекомых позволяют связать особенности пространственной организации пептидов с их функциональной специфичностью.

Одним из наиболее значимых достижений работы считаю исследование пуротоксинов, селективно ингибирующих P2X3-рецепторы. Здесь прослеживается последовательная связь между выделением природных пептидов, установлением их структуры, характеристикой рецепторной селективности и проверкой антиноцицептивного действия на животных. Особенно убедителен результат, полученный на мышах с нокаутом гена P2rx3: отсутствие эффекта PT6 в использованной болевой модели поддерживает вывод о зависимости его действия от данной молекулярной мишени. Представленные результаты обосновывают дальнейшее изучение пуротоксинов как потенциальных терапевтических соединений.

Самостоятельный интерес представляют исследования модульных токсинов. Сопоставление активности полноразмерных молекул и отдельных модулей позволяет оценить вклад их ковалентного объединения в биологическое действие. Структурные исследования в водной и мембраноподобной среде раскрывают связь между конформационными свойствами пептидов и их взаимодействием с мембранами.

Практическая ценность диссертации также связана с созданием молекулярных инструментов для нейробиологии. Получены слитные конструкции нейротоксинов с флуоресцентными белками, пригодные для визуализации каналов и рецепторов и разработки систем поиска лигандов. Исследование комплексов поровых блокаторов с AMPA-рецепторами получило развитие в создании светопереключаемых соединений, позволяющих управлять активностью кальций-проницаемых AMPA-рецепторов. Эти результаты непосредственно связывают структурные исследования с разработкой методов изучения нервной системы.

По материалам автореферата имеются следующие вопросы и замечания.

1. Селективность ряда полученных лигандов установлена преимущественно на рекомбинантных каналах. Вместе с тем автор справедливо отмечает важность гетеромерных калиевых каналов. Было бы полезно яснее обозначить, в какой степени профили селективности сохраняются в нативных клетках и какие ограничения необходимо учитывать при использовании этих соединений для определения субъединичного состава каналов.
2. При обсуждении Hm-3 автор указывает на ограничения его клинического применения. Существенно, что подавление ω-токов требует более высоких концентраций, чем ингибирование основного натриевого тока. Желательно подробнее сформулировать, какие структурные и функциональные свойства необходимо изменить для разделения этих эффектов и получения соединений, избирательно подавляющих патологическую проводимость.

3. Для пуротоксинов представлены убедительные данные о рецепторной селективности и антиноцицептивной активности. Вместе с тем изложенные в заключении сведения об их стабильности, продолжительности действия и низкой токсичности выиграли бы от более подробного количественного представления в автореферате. Это позволило бы точнее оценить степень готовности соединений к дальнейшей разработке.

Указанные замечания касаются границ интерпретации и перспектив развития исследований и не снижают высокой оценки представленной работы.

Автореферат последовательно раскрывает основные направления исследования, содержит конкретные экспериментальные результаты и позволяет оценить их научную новизну и значение. Согласно приведенным сведениям, результаты отражены в 80 публикациях, включая 77 статей в рецензируемых научных журналах; представлены также сведения о патентовании разработок.

На основании автореферата считаю, что диссертация А.А. Василевского «Токсины паукообразных: многообразие, фундаментальные и прикладные аспекты» представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, в которой решена крупная научная проблема установления структурно-функциональных закономерностей действия токсинов паукообразных и создания на их основе селективных лигандов ионных каналов и рецепторов. Работа вносит существенный вклад в биоорганическую химию и молекулярную нейробиологию. Ее автор, Василевский Александр Александрович, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 «Биоорганическая химия».

Рецензент:

Семьянов Алексей Васильевич, д.б.н., членкор РАН.

Профессор, Директор Нейронаучного центра, Цзясинский Университет

ул. Юэсю-Южная, 56, город Цзясин, провинция Чжэцзян, Китай, 314001

semyanov@zjxu.edu.cn

28 октября 2026 _____ / Семьянов А.В. /