

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Багаманшиной Анастасии Викторовны «ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНАЛОГОВ ЛАКТАПИНА»**, представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Основные научные результаты и их актуальность. Диссертационная работа Б.А. Багаманшиной посвящена исследованию рекомбинантных аналогов перспективного противоопухолевого белка лактапина. Работа имеет первостепенное прикладное значение, поскольку в связи с совершенствованием терапии онкологических заболеваний крайне важно вовлекать все новые противоопухолевые препараты и их комбинации. Не вызывает сомнений и фундаментальный аспект работы, поскольку автор исследует механизмы запуска разных форм клеточной гибели на молекулярном уровне. Анастасия Викторовна использует множество современных методов, включая работу с широким спектром опухолевых культур человека, анализ активности препаратов на мышинных моделях, исследование экспрессии ключевых генов из каскада клеточной гибели, электронно-микроскопический анализ внутриклеточных процессов и многие другие. Две работы по теме диссертации опубликованы в международных научных журналах с импакт-фактором выше 2 (в одном из них соискатель – первый автор), две в отечественных журналах и имеется один патент.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, достоверность полученных результатов. Выносимые на защиту научные положения основаны на обширном фактическом материале, полученным как самим автором, так и в соавторстве с другими участниками научного коллектива. В ходе работы предложены интересные модели активации аутофагии в опухолевых и нетрансформированных клетках и влиянии этого процесса на выживаемость. Показано, что комбинация препарата как с ингибиторами, так и с индукторами аутофагии оказывает цитотоксический эффект на трансформированные клетки. Выявлена существенная разница в использовании рекомбинантных аналогов лактапина, продуцируемых в про- и эукариотических клетках. Корректность методов не вызывает сомнения и подтверждается хорошим рейтингом опубликованных по теме диссертации работ. Достоверность результатов подтверждается их воспроизведением с помощью разных подходов, а при анализе разных наборов данных использовался тщательный статистический анализ.

Общая оценка работы. Диссертация состоит из 136 страниц, оформлена по стандартной схеме и содержит все необходимые разделы, содержит 42 иллюстрации и 10 таблиц.

При прочтении главы «Введение» создается хорошее понимание актуальности темы исследования, автор выделяет в отдельные разделы цели и задачи, научную новизну и практическую значимость, положения, апробацию результатов, а так же вклад автора.

Обзор литературы посвящен анализу потенциала белковых препаратов в терапии онкологических заболеваний посредством индукции аутофагии, он основан большей частью на недавних исследованиях, опубликованных в ведущих международных журналах, и состоит из двух частей, касающихся описанию потенциала описанных белковых

препаратов в онкологии и непосредственно феномена аутофагии. В целом обзор литературы написан хорошо, но его бы очень усилило введение раздела по предшествующим исследованиям природного белка лактапина и его аналогов. Глава заканчивается разделом «Заключение», где логично обосновывается актуальность исследования.

Глава «Экспериментальная часть» включает описание материалов, оборудования и методов, использованных в работе. В главе стоило бы добавить раздел про работу по получению эукариотических рекомбинантных аналогов лактапина (по крайней мере, структуру векторов можно было описать здесь, а не в главе «Результаты»).

Самый крупный раздел «Результаты и обсуждения» занимает 51 страницу и состоит из четырех частей, структурированных в соответствии задачами исследования. Содержит достаточное количество иллюстраций и таблиц, облегчающих восприятие полученных данных.

Раздел «Выводы» содержит 6 пунктов, они довольно хорошо сформулированы, соответствуют защищаемым положениям и согласуются с результатами.

Основные результаты диссертационной работы кратко суммированы в автореферате, там присутствуют все выводы и список публикаций по теме исследования. Публикации по теме диссертации опубликованы относительно недавно, с 2014 по 2019 гг. Диссертация и автореферат написаны грамотно и логично, содержат минимальное количество ошибок и опечаток.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Все представленные данные получены впервые, опубликованы в научных журналах и представлены на отечественных и международных конференциях. Полученные автором результаты открывают новые перспективы использования рекомбинантных аналогов лактапина в онкологии и, безусловно, являются значительным вкладом в развитие новых методов терапии злокачественных заболеваний. Выявленные особенности индукции аутофагии и роли это процесса как в выживании раковых клеток, так и в их гибели имеют большое фундаментальное значение.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Безусловно, обнаруженные особенности взаимодействия рекомбинантных аналогов лактапина имеют огромный потенциал как в терапии злокачественных заболеваний, так и в исследованиях молекулярных путей индукции разных типов клеточной гибели. Результаты могут использоваться для проведения клинических испытаний как аналогов лактапина, так и других перспективных белковых препаратов. Полученные знания о способах активации разных путей клеточной гибели могут быть использованы специалистами по клеточной и молекулярной биологии.

Общие замечания. В целом работа бы сильно выиграла от включения как литературных данных по самому лактапину, особенно это кажется важным в разделе, описывающим эукариотические рекомбинантные белки EL1 и EL2, где проведено их качественное сравнение с прокариотическими аналогами, но не с природным лактапином. В обзоре литературы стоило бы подробно остановиться на ранее исследованных свойствах природного лактапина и механизмах его воздействия на раковые клетки (доказана ли интернализация белка, как показано его взаимодействие с клеточными мишенями и прочее).

В подписях к рисункам и таблицам зачастую не хватает описания. Так, в Таблице 5 довольно странно разбиты дозы всего на две категории, имеющие разные эффекты, и не понятно, были проведены эксперименты на культурах клетках или *in vivo*. В таблице 6 не ясно, что значит столбец «жизнеспособность». Если это процент жизнеспособных клеток, то при суммировании с процентом апоптотических клеток в нескольких случаях получается цифра выше 100%. В таблице 7 стоило хотя бы разделить культуры на трансформированные и нетрансформированные. На рис. 40 не объяснено наличие продукта с мол. массой 28 кДа в дорожке RL2.

На рисунке 10 диссертации (рис 1 автореферата) перепутаны популяции Q2 и Q4. Все же Q2 – это поздняя апоптотическая и вторично некротическая, а Q4 – ранняя апоптотическая. На рис. 21 фракции вообще не расшифрованы. Однако в самом тексте работы все фракции описаны верно.

В работе стоило бы подробнее обсудить интересный выявленный в данной работе феномен цитотоксического действия препарата как при комбинировании с ингибиторами, так и с индукторами аутофагии.

Небольшие стилистические замечания:

На стр. 19 описаны «концентрации от 200 до 545 мкг/м²». Я бы все же рекомендовал называть это дозами, а концентрациями.

На стр. 29 указана стоимость курса «156.159\$», причем здесь точка используется для разбивки многозначного целого числа на группы, а далее в тексте точка используется как десятичный разделитель.

Таблицу 4 стоило бы представить как рисунок, там представлены структурные формы трех соединений и их названия. Лучше бы смотрелось, если бы структурные формулы были изображены единообразно.

В материалах указан корм, наверное, стоило бы уточнить, что это корм для мышей.

Стр. 66 – неверно указана ссылка на получение рекомбинантного белка. В списке литературы ссылке [1] соответствует публикация о свойствах природного лактапина.

На странице 71 описываются некоторые результаты анализа RL2-зависимой регуляции экспрессии генов на чипах Illumina, однако не указана ссылка на эти эксперименты.

На рис. 16А не хватает масштаба изображения. Кроме того, не понятно, как проводилась нормализация по выдержке при фотографировании изображения на канале FITC (возможно, это стоило бы расшифровать в описании методов). На рис. 16В следовало бы подписать полосу, соответствующую LC3-II.

Латинские названия видов, например на стр. 112 и 113 лучше выделять курсивом.

На стр. 113 термин «копеподы» лучше перевести как «веслоногие рачки».

На стр 116 «Нано (микро)-граммовое количество белка» не очень информативный термин (это доза на литр среды или на кг веса?), лучше приводить полумаксимальные эффективные концентрации.

На стр. 116 предположено, что высокая активность EL1 может быть связана с фосфорилированием этого белка у эукариот, почему эта модификация не была проверена с помощью антител на фосфосерин или масс-спектрометрии?

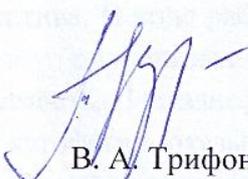
Список публикаций: номер статьи в электронном выпуске не следует путать со страницами, «Р» - это страница!

Однако эти замечания не носят принципиальный характер и не умаляют научно-практической значимости диссертационной работы.

Заключение. Диссертационная работа Багаманшиной Анастасии Викторовны «ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНАЛОГОВ ЛАКТАПИНА», выполненная в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, представляет собой цельное и законченное исследование, в котором подробно рассмотрено влияние рекомбинантных аналогов лактапина на процессы индукции клеточной гибели опухолевых клеток. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует специальности 03.01.03 – молекулярная биология Автореферат достаточно полно отражает объем и содержание работы. По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и качеству научных публикаций представленная работа соответствует критериям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к кандидатским диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Диссертационная работа оформлена в соответствии с Положениями № 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а автор диссертации, Багаманшина А. В., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией сравнительной геномики
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН
д.б.н.


В. А. Трифонов

29.01.2020

Подпись д.б.н. В.А. Трифонов заверяю

Ученый секретарь ИМКБ СО РАН, к.б.н.




Л. Г. Ахмерова

29.01.2020

Специальность, по которой официальным оппонентом была защищена диссертация:
03.01.07 – молекулярная генетика.

Адрес места работы:

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Пр. ак. Лаврентьева, 8/2

630090, г. Новосибирск

Тел: 8 (383)3639078 <http://www.mcb.nsc.ru> E-mail: vlad@mcb.nsc.ru