

ОТЗЫВ

официального оппонента
о диссертационной работе

Александры Александровны Дакс

на тему

«ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УБИКВИТИНЛИГАЗЫ Pirh2 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
03.01.03 – молекулярная биология.

Диссертационная работа Александры Александровны Дакс посвящена изучению регуляции экспрессии, белок-белковых взаимодействий и роли в канцерогенезе убиквитинлигазы Pirh2. На сегодняшний день данный фермент изучен главным образом в контексте его взаимодействия с главным онкосупрессорным белком – p53. При этом другие аспекты функционирования Pirh2 в клетке изучены в гораздо меньшей степени. Данная диссертационная работа расширила научные знания об участии белка Pirh2 в таких ключевых клеточных процессах, как пролиферация, ответ на генотоксический стресс и опухолевая трансформация клеток.

Актуальность работы.

Актуальность исследования сигнальных путей, ассоциированных с канцерогенезом не вызывает сомнений. Белок Pirh2, являясь негативным регулятором онкосупрессора p53, более десяти лет находится под пристальным вниманием исследователей и рассматривается в качестве потенциальной мишени для разработки противоопухолевой терапии. Однако, на сегодняшний день известно, что белок Pirh2 способен играть как онкогенную, так и онкосупрессорную роль. Механизмы такого «переключения» на сегодняшний день являются малоизученными. В диссертационной работе А.А. Дакс определены не только ранее не известные молекулярные механизмы регуляции и функционирования белка Pirh2, но также и роль данного фермента в формировании опухолевого потенциала клеток карциномы легкого. Таким образом, помимо фундаментально-научного значения данная работа характеризуется актуальностью с точки зрения выявления новых механизмов канцерогенеза.

Научная новизна.

В работе впервые продемонстрирован новый p53-независимый механизм регуляции экспрессии гена *RCHY1*, кодирующего белок Pirh2. Кроме того, в результате протеомного масс-спектрометрического анализа было определено более 200 новых белков, взаимодействующих с убиквитинлигазой Pirh2. В диссертационной работе определена функциональная значимость взаимодействия Pirh2 с белком Elavl1 и гистоном H2A.Z. Была показана независимая от p53 туморогенная роль белка Pirh2 в клетках карциномы легкого человека. Все эти данные являются новыми и опубликованы автором в рецензируемых российских и зарубежных журналах.

Научно-практическая значимость диссертационной работы.

Безусловно, диссертационная работа А.А. Дакс носит фундаментальный характер, однако полученные результаты также имеют практическое значение и могут быть в дальнейшем использованы в диагностике и терапии онкологических заболеваний.

Структура и содержание работы

Диссертация А.А. Дакс изложена на 148 страницах, построена по классическому плану и включает разделы «Список сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Основные выводы», «Список литературы», включающий 264 источника и «Благодарности».

Раздел «Введение» включает традиционные главы, такие как «Актуальность исследования», «Цели и задачи работы», «Основные положения, выносимые на защиту», «Научная новизна полученных результатов», «Теоретическое и практическое значение работы», «Апробация работы», «Личный вклад автора» и «Список опубликованных по теме диссертации печатных работ». Данный раздел полностью выполняет свою функцию, вводя читателя в тему и суть диссертационного исследования.

Раздел «Обзор литературы» достаточно полно отражает современное состояние такого раздела науки как убиквитин-зависимая деградация белков и заболевания, ассоциированные с нарушением данного процесса. Автор предоставляет имеющиеся на сегодняшний день в литературе сведения об объекте исследования – убиквитинлигазе Pirh2, механизмах его регуляции и известных на сегодняшний день белках-мишенях. В данный раздел также включена глава о противоречивой роли Pirh2 в канцерогенезе, что является логичным в контексте одного из разделов экспериментальной части диссертационной работы.

Литературный обзор написан грамотным и понятным языком, однако, имеется ряд замечаний:

1. Хотелось бы дополнить данный раздел более подробными сведениями о белках семейства p53.
2. В ряде случаев автор пренебрегает расшифровкой некоторых аббревиатур, как, например, в случае с ARNIP на с. 24 и TNM на с. 38.
3. Еще одним замечанием является использование в качестве источников несколько устаревших источников, хотя приводимые в них данные остаются актуальными. В основном данное замечание касается источников статистических данных о встречаемости мутаций в гене p53 при онкопатологии (например, Hollstein et al., 1991).

В целом обзор литературы выполняет свою функцию и дает читателю достаточную базу для понимания проблемы, которой посвящено исследование, и стоящих перед автором задач.

В разделе «Материалы и методы» приводится детальное описание использованных подходов, что при необходимости позволяет воспроизвести проделанные автором эксперименты.

В качестве замечаний можно указать следующие:

1. Приведенные концентрации ДНК-повреждающих агентов доксорубина и цисплатина не позволяют адекватно сопоставить их количество. Так, для доксорубина концентрация указана в микромолях, а для цисплатина в микрограммах в миллилитре.
2. В описании метода GST-пулдауна отсутствует расшифровка аббревиатуры GST (глутатион-S-трансфераза), так же, как и в списке использованных сокращений.

В целом в диссертационной работе использовался широкий спектр современных методов молекулярно-биологических исследований, позволивших автору эффективно решить поставленные задачи. Особо хочется отметить эффективное сочетание биохимических, цитологических и биоинформатических подходов при выявлении новых белков-интерактантов Pirh2.

Раздел «Результаты» содержит подробное описание выполненных экспериментов и их разносторонний анализ. Ключевыми результатами диссертационной работы А.А. Дакс представляются следующие: выявление p53-зависимого механизма регуляции экспрессии Pirh2; идентификация новых взаимодействующих с данным ферментом белков; а также определение влияния белка Pirh2 на такие характеристики клеток карциномы легкого как интенсивность пролиферации, способность к миграции и чувствительность к

химиопрепаратам. Особо хочется отметить логичность изложения экспериментального материала диссертации – последовательное продвижение от выявления новых механизмов регуляции экспрессии Pirh2 транскрипционным фактором p63 к анализу его интерактома и оценке туморогенного потенциала данного белка на клеточной модели карциномы легкого. В качестве замечаний к данному разделу можно привести следующие:

1. В разделе, посвященном активации экспрессии Pirh2 транскрипционным фактором p53, отсутствует статистическая обработка полученных данных вестерн-блот анализа.
2. В работе отсутствуют данные о возможности регуляции экспрессии Pirh2 транскрипционным фактором p73, что могло бы логично завершить раздел, посвященный связи белкового семейства p53 и убиквитинлигазы Pirh2.

В разделе «Обсуждение» автор производит анализ полученных результатов, а также сравнивает собственные результаты с результатами других авторов, известных из литературных источников.

На основании полученных результатов автором сделано пять логичных четко сформулированных выводов, соответствующих поставленным в работе задачам.

Высказанные замечания не умаляют высокой научной значимости работы.

Заключение

В целом представленная к защите диссертационная работа Александры Александровны Дакс, выполненная под руководством д.б.н. Николая Анатольевича Барлева, представляет собой целостное и законченное исследование, в котором получены достоверные научные результаты. Все разделы диссертации логически связаны друг с другом. Рукопись хорошо оформлена и проиллюстрирована, приведены все необходимые экспериментальные данные и поясняющие их схемы. Сделанные замечания ничуть не снижают научной ценности работы.

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 4 статьях в рецензируемых журналах и были представлены на российских и международных конференциях. Проведенный автором анализ результатов находится на высоком научном уровне, сделанные выводы являются обоснованными и полностью соответствуют полученным в работе результатам. В диссертационной работе представлены новые данные о регуляции экспрессии белка Pirh2, его белок-белковых взаимодействиях и роли в формировании туморогенного потенциала раковых клеток.

На основании вышеизложенного, диссертационная работа Александры Александровны Дакс полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке

присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присвоения искомой степени по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Официальный оппонент

Директор Института гематологии

Федерального государственного бюджетного учреждения

«Северо-Западный федеральный медицинский

исследовательский центр им. В.А. Алмазова»

Министерства Здравоохранения Российской Федерации,

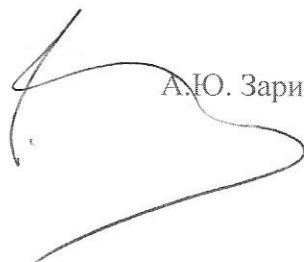
Санкт-Петербург,

Доктор медицинских наук

По специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови,

профессор

13 марта 2017 г

 А.Ю. Зарицкий

Подпись Зарицкого А.Ю. заверяю

Ученый секретарь федерального государственного бюджетного учреждения

«Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А.

Алмазова»

Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Санкт-Петербург

Доктор медицинских наук, профессор





Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2,

Институт гематологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Северо-

Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова»

Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Тел.: +7 (812) 702-68-28

Сайт: <http://www.almazovcentre.ru/>

E-mail: zaritskey@gmail.com