

Отзыв официального оппонента на диссертационную работу

Шувалова Олега Юрьевича

**«ЛИЗИН СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ, MDM2 И SET7/9, В РЕГУЛЯЦИИ
КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА НА ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ
СТРЕСС»,**

представленную к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук
(специальность 03.01.03 – Молекулярная биология)

Актуальность и новизна диссертационного исследования

Белок p53 является основным онкосупрессором человека. Одними из ключевых регуляторов его активности являются E3 убиквитин-лигаза MDM2 и лизининовая метилтрансфераза Set7/9. Помимо регуляции p53, в онкогенезе они так же играют и другие функции. Изучение p53-независимых свойств MDM2 и Set7/9 важно как для понимания их фундаментальной роли в онкогенезе, так и для разработки новых подходов противоопухолевой таргетной терапии.

В диссертационной работе О.Ю. Шувалова впервые были получены важные данные, свидетельствующие о новых p53-независимых механизмах участия MDM2 и Set7/9 в различных клеточных процессах.

В частности, было показано существование в клетках механизма отрицательной обратной связи метилтрансферазы SET7/9 и E3 убиквитин-лигазы MDM2.

Было также продемонстрировано, что экспрессия основных сплайс-изоформ MDM2, в отличие от полноразмерного белка, не влияет на устойчивость раковых клеток к важнейшим химиотерапевтическим препаратам – доксорубину, цисплатину и метатрексату.

Были описаны новые взаимодействия целого ряда белков с метилтрансферазой SET7/9 и различными изоформами E3 убиквитин-лигазы MDM2. Эти новые интерактанты участвуют в регуляции транскрипции, трансляции, процессинге РНК, метаболизме, образовании межклеточных контактов, что указывает на их важную роль в онкогенезе.

Впервые было обнаружено участие SET7/9 и MDM2 в контроле одноуглеродного метаболизма за счёт влияния на экспрессию ферментов SHMT2 и MTHFD2, которые являются ключевыми игроками цикла превращений фолата. Было также показано, что MDM2 является E3 убиквитин-лигазой для серингидроксиметилтрансферазы SHMT2 и приводит к её убиквитинилированию с последующей протеасомной деградацией.

Общая характеристика работы

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 129 страницах машинописного текста, состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение, выводы и список цитируемой литературы, содержащий 169 наименования. Материалы диссертации иллюстрированы 31 рисунком и 16 таблицами. В обзоре литературы приведены обширные данные об известных молекулярных механизмах влияния MDM2 и Set7/9 на различные

клеточные процессы. Автором подробно рассмотрены молекулярные пути одноуглеродного метаболизма. Описаны молекулярные механизмы ответа клеток на генотоксический и метаболический стрессы.

В своей диссертационной работе О.Ю. Шувалов использовал широкий спектр современных методов: комплекс культуральных работ с раковыми клеточными линиями человека, электрофорез и иммуноблоттинг, анализ экспрессии генов методом ПЦР в режиме реального времени, протеомный анализ с использованием GST pull-down в сочетании с жидкостной хроматографией и масс-спектрометрией. Все использованные в работе методы адекватны поставленным задачам.

В целом, обзор литературы продемонстрировал довольно глубокое владение автором изучаемой научной области. В замечаниях к данной главе можно отметить Рис. 6 низкого качества, выполненный в недостаточном разрешении.

В разделе «Материалы и методы», в подглаве «масс-спектрометрия» идет описание не только масс-спектрометрии, но и предшествовавшей ей жидкостной хроматографии. Поэтому данную подглаву стоило бы назвать «Жидкостная хроматография и масс-спектрометрия». Кроме того, в разделе «Материалы и методы» не указаны последовательности праймеров, использованных для создания векторов, кодирующих отдельные домены лизин-специфичной метилтрансферазы Set7/9.

В разделе «Результаты», при описаниях идентифицированных интерактантов Set7/9 и MDM2 автор приводит группу белков под объединяющим названием «Рибосомальные белки и трансляция». Поскольку рибосомальные белки имеют прямое отношение к процессу трансляции, из данного названия не понятно, какого рода белки автор объединяет термином «трансляция».

Так же в разделе «Результаты» автор указывает, что для примерно 30% идентифицированных в его работе белков в литературе уже описано их взаимодействие с MDM2. При этом было бы интересно, если бы автор привел список, в котором было бы указано, какие именно белки были ранее идентифицированы как интерактанты MDM2.

Помимо этого, можно рекомендовать автору часто используемое им во всех разделах работы словосочетание «образуют петлю отрицательной обратной связи» заменить более традиционным словосочетанием «образуют отрицательную обратную связь».

Высказанные замечания не снижают высокий научный уровень диссертационной работы.

По результатам данной диссертации опубликованы 12 печатных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых международных и отечественных научных журналах из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ, а так же 8 тезисов докладов на международных и отечественных конференциях.

Материалы диссертации были представлены на Международных конференциях “FEBS 2014” (Париж, Франция) и “Advances in oncology 2015” (Афины, Греция), а так же на конференции молодых ученых Института цитологии РАН по биологии клетки в культуре (Санкт-Петербург, 2014) и международной школе молодых учёных по молекулярной генетике (Москва, Звенигород, 2015).

Заключение

В целом диссертация О.Ю. Шувалова, выполненная на высоком научном и методическом уровне, заслуживает высокой оценки; в ходе её выполнения получены новые данные по актуальной проблеме. Считаю, что диссертационная работа Шувалова Олега Юрьевича «Лизин специфические ферменты, MDM2 и SET7/9, в регуляции клеточного ответа на генотоксический и метаболический стресс», выполненная под руководством д.б.н. Николая Анатольевича Барлева, является законченной квалификационной работой, содержит новые данные о механизмах участия MDM2 и SET7/9 в клеточном ответе на генотоксический и метаболический стресс. Считаю, что диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Руководитель отдела биологии опухолевого
роста Федерального государственного
бюджетного учреждения "НИИ онкологии
им. Н.Н. Петрова" Министерства
здравоохранения России,

Санкт-Петербург

доктор медицинских наук по
специальностям 14.00.14 – онкология и
03.00.04 - биохимия,

профессор

Е.Н. Имянитов

01 июня 2016 г.

Адрес: 197758, Ленинградская область, Песочный, ул. Ленинградская, 68,

www.niioncologii.ru/,

ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России

тел.: +7(812) 439-95-55

e-mail: evgeny@imyanyitov.spb.ru

Подпись
Имянитов Е.Н.
Заведующий
отдел
кадров
О.В.Р.

