

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.230.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ПО ДИССЕРТАЦИИ **ШУВАЛОВА ОЛЕГА ЮРЬЕВИЧА**
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 24 июня 2016 года, № 211/390

О присуждении Шувалову Олегу Юрьевичу (Россия) учёной степени кандидата биологических наук

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

По специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология»

Принята к защите 05.04.16 г., протокол №208/387 Диссертационным советом Д 002.230.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук, адрес: 194064, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий просп. 4, утверждён приказом Минобрнауки РФ №105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Шувалов Олег Юрьевич, 1988 года рождения, в 2012 г. окончил биолого-почвенный факультет Санкт-Петербургского государственного Университета по специальности «биология» по профилю специализации «физиология и биохимия растений». Диссертация выполнена в порядке прохождения очной аспирантуры с 16.04.2013 по 12.08.2016 в Лаборатории регуляции экспрессии генов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии РАН.

Работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт цитологии РАН с 2013 года в Лаборатории регуляции экспрессии генов, с августа 2015 года по настоящее время Шувалов Олег Юрьевич является младшим научным сотрудником.

Диссертация выполнена в Лаборатории регуляции экспрессии генов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

Научный руководитель:

Барлев Николай Анатольевич, доктор биологических наук (специальность 03.03.04 – «клеточная биология, цитология, гистология»), заведующий лабораторией регуляции экспрессии генов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1. **Имянитов Евгений Наумович**, доктор медицинских наук (по специальностям 14.00.14 – онкология и 03.01.04 -биохимия), профессор, руководитель лаборатории молекулярной онкологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург
 2. **Галкин Алексей Петрович**, доктор биологических наук (по специальности 03.02.07 - генетика), доцент, руководитель лаборатории генетического моделирования болезней человека Санкт-Петербургского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук, Санкт-Петербург
- дали положительные отзывы на диссертацию**

Ведущая организация:

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва) в своём положительном заключении (заключение составлено руководителем отдела химического канцерогенеза, доктором медицинских наук М.Г. Якубовской и утверждено директором НИИ канцерогенеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина, д.б.н. Красильниковым М.А.) **указала, что** диссертационная работа является законченным самостоятельным научно-квалификационным исследованием в области молекулярной онкологии, полностью отвечающим требованиям,

присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология», и

- дала положительный отзыв на диссертацию.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ по теме диссертации, из них 4 статьи (2 п.л.) в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов кандидатских диссертаций, и 8 тезисов докладов на отечественных и международных форумах.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Shuvalov, O.**, Petukhov, A., Daks, A., Fedorova, O., Ermakov, A., Melino, G., & A Barlev, N. (2015). Current Genome Editing Tools in Gene Therapy: New Approaches to Treat Cancer. Current gene therapy, 15(5), 511-529

Статья посвящена основным современным методам редактирования генома человека в контексте их применения в противоопухолевой терапии. Разрабатываемые методы генной терапии рассмотрены с точки зрения их потенциального использования в таргетной генной противоопухолевой терапии.

2. Vasileva, E. A., **Shuvalov, O. U.**, Garabadgiu, A. V., Melino, G., & Barlev, N. A. (2015). Genome-editing tools for stem cell biology. Cell death & disease, 6(7), e1831.

Статья посвящена методам редактирования генома человека в первую очередь в отношении стволовых клеток. Наиболее подробно рассматриваются CRISPR/Cas9 система, позволяющая быстро, просто и эффективно вводить нужные изменения в геном человека.

3. Lezina, L., Aksenova, V., Fedorova, O., Malikova, D., **Shuvalov, O.**, Antonov, A. V., ... & Barlev, N. A. (2015). KMT SET7/9 affects genotoxic stress response via the Mdm2 axis. Oncotarget, 6(28), 25843-25855.

Статья посвящена изучению роли Set7/9 и MDM2 в клеточном ответе на генотоксический стресс. Впервые показано физическое взаимодействие Set7/9 и MDM2, показано их взаимное влияние на

экспрессию друг друга (петля отрицательной обратной связи). Кроме того, исследована функциональная роль Set7/9 и MDM2 в ответе на генотоксический стресс.

4. **О.Ю. Шувалов, О.А. Федорова, А.В. Петухов, А.А. Дакс, Е.А. Васильева, Т.А. Григорьева, Г.С. Иванов, Н.А. Барлев.** Негативные регуляторы онкосупрессора p53 в контексте направленной противоопухолевой терапии (2015). Цитология. 57 (12): 847–854
Статья посвящена изучению роли белок-белковых взаимодействий с участием, в первую очередь, MDM2 в регуляции ключевых процессов жизнедеятельности опухолевых клеток. Описаны как онкогенные, так и онкосупрессорные функции MDM2. Кроме того, показаны некоторые молекулярные пути участия сплайс-изоформ MDM2 в онкогенезе.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Руководителя лаборатории Постгеномных исследований Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «Молекулярная биология» **Кудрявцевой Анны Викторовны.** Отзыв положительный, без замечаний.
2. Доцента отдела клеточной биологии и анатомии Университета Флориды (США), кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология и гистология» **Ишова Александра Михайловича.** Отзыв положительный, без замечаний.
3. Старшего научного сотрудника лаборатории генетики эукариот Петербургского Института ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ "Курчатовский институт", кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика» **Конева Александра Юрьевича.** Отзыв положительный, без замечаний.

В дискуссии принимали участие:

1. Д.б.н., Д.С. Боголюбов, член Совета
2. Д.б.н., проф. Е.Р. Гагинская, член Совета
3. Д.б.н., Б.А. Маргулис, зав. ОКК ИИЦ РАН
4. Д.б.н., С.О. Скарлато, зав. Лаб, зам. Дир. ИИЦ РАН, куратор Диссовета

5. Д.б.н., проф. **Б.Н. Кудрявцев**, зав. Лаб . ИНЦ РАН
6. Д.б.н., проф. **М.И. Мосевичкий**, член Совета
7. Д.б.н., проф. **Е.С. Корнилова**, член Совета

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов в области молекулярной биологии, в частности исследования молекулярных механизмов онкогенеза. Кроме того, выбранные официальные оппоненты являются специалистами в области молекулярно-биологических исследований с использованием современных технологий протеомного подхода.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **разработаны** новые представления о роли лизин-специфичных ферментов – MDM2 и Set7/9 – в регуляции ответа раковых клеток на генотоксический и метаболический стрессы.
- **предложена** оригинальная модель, иллюстрирующая потенциальную петлю отрицательной обратной связи изучаемых ферментов в контроле одноуглеродного метаболизма.
- **доказано** влияние MDM2 и Set7/9 на экспрессию друг друга как на транскрипционном, так и на белковом уровнях.
- **введены** представления о новых, p53-независимых функциях MDM2 и Set7/9 в онкогенезе

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **доказаны** положения, расширяющие существующие представления о значении и функциях лизин-специфических ферментов MDM2 и Set7/9 в раковых клетках,
- **применительно к проблематике диссертации результативно использован** широкий арсенал современных методов молекулярной биологии: протеомный анализ (метод GST pull-down с жидкостной хроматографией и масс-спектрометрией), ПЦР в РВ, иммуноблотинг, комплекс культуральных работ и т.д.
- **изложены** новые экспериментальные данные о физическом взаимодействии MDM2 и Set7/9 с более чем 100 различными белками, многие из которых играют ключевую роль в онкогенезе,

- **раскрыто** влияние MDM2 и Set7/9 на устойчивость раковых клеток к важнейшим химиотерапевтическим препаратам – доксорубину, цисплатину и метатрексату,
- **изучены** пути влияния MDM2 и Set7/9 на одноуглеродный метаболизм,
- **проведена** модернизация методик работы с рекомбинантными белками для идентификации интерактантов E3-лигазы MDM2, а также её сплайс-изоформ.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **определено** влияние экспрессии метилтрансферазы Set7/9, убиквитин-лигазы MDM2, а также её сплайс-изоформ на изменение восприимчивости раковых клеток различного генезиса к важнейшим химиотерапевтическим препаратам – доксорубину, цисплатину и метатрексату,
- **сформированы** представления о потенциальном негативном влиянии препаратов-ингибиторов MDM2 в сочетанной терапии с доксорубином вследствие повышения генетической нестабильности

Другие научные достижения, свидетельствующие о научной новизне и значимости полученных результатов:

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых международных научных журналах, а также 1 статья в отечественном журнале из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ. Кроме того, материалы диссертации отражены в 8 тезисах докладов на двух международных и шести отечественных конференциях.

Оценка достоверности результатов выявила:

- **для экспериментальных работ** результаты, представленные в диссертации, получены на сертифицируемом оборудовании, выбор использованных методов обоснован, показана воспроизводимость результатов исследования,
- **теория** построена на известных, проверенных литературных данных и полностью соответствует опубликованным экспериментальным данным по теме диссертации,
- **идея основывается** на глубоком анализе и обобщении как литературных, так и экспериментально полученных автором данных,
- **использовано** сравнение результатов, полученных автором, с ранее опубликованными по теме диссертации литературными данными,
- **установлено**, что авторские результаты согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение было обоснованным,
- **использованы** современные экспериментальные подходы и адекватные методики статистической обработки данных.

Личный вклад соискателя состоит в:

активном участии в определении направления и постановке задач исследований, выборе и обосновании методик экспериментов, анализе полученных результатов и формулировании выводов. Все основные эксперименты были выполнены автором лично. Автор принимал непосредственное участие в апробации полученных результатов и подготовке публикаций по теме диссертации. Диссертационная работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант №14-15-00816), а так же РФФИ (гранты №14-04-92613 и 15-04-04541).

Диссертация, посвященная изучению роли лизин-специфичных ферментов, MDM2 и SET7/9, в регуляции клеточного ответа на генотоксический и метаболический стресс, является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием в области молекулярной биологии, полностью отвечающим требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года) по специальности 03.01.03 – "Молекулярная биология".

На заседании 24 июня 2016 г. диссертационный совет принял решение **присудить ШУВАЛОВУ Олегу Юрьевичу** учёную степень кандидата биологических наук по специальности «Молекулярная биология» (03.01.03).

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 8 докторов по специальности рассматриваемой диссертации, участвующих в заседании, из 24 человек, входящих в состав Совета, проголосовали:

«ЗА» 18, «ПРОТИВ» НЕТ, недействительных бюллетеней НЕТ.

Председатель
Диссертационного совета Д 002.230.01
На базе ИНЦ РАН,
Доктор биологических наук, профессор

А. Л. Юдин

Учёный секретарь
Диссертационного совета Д 002.230.01
На базе ИНЦ РАН,
кандидат биологических наук

Е.В. Каминская



«27» июня 2016 г.