

Отзыв официального оппонента на диссертационную работу

Парфеньева Сергея Евгеньевича

««Подавление онкосупрессорной активности p53 с помощью транскрипционного фактора эпителиально-мезенхимального перехода – Zeb1 в клеточной модели рака молочной железы»»,

представленную к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук
(специальность 1.5.3 - Молекулярная биология)

Актуальность исследования

Несмотря на десятилетия активных исследований, изучение механизмов канцерогенеза и ассоциированных с ним молекулярных каскадов является одной из актуальнейших тем современной молекулярной биологии. Диссертационная работа посвящена комплексному исследованию взаимной регуляции транскрипционных факторов Zeb1 и p53. Важно отметить, что эти факторы выполняют в организме противоположные задачи: p53 отвечает за стабильность генома, а Zeb1 – за приобретение лекарственной устойчивости и метастазирование. Таким образом, несомненно, исследование Парфеньева С.Е., посвященное изучению механизмов взаимной регуляции Zeb1 и p53 в процессе эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП), является актуальным как для фундаментальной науки, так и с точки зрения поиска новых стратегий терапии опухолевых заболеваний.

Новизна исследования

В диссертационной работе С.Е. Парфеньева были впервые получены важные результаты, позволившие установить существование петли обратной регуляции между транскрипционными факторами p53 и Zeb1. В частности, было показано, что Zeb1 подавляет p53 на уровне мРНК. При этом, вопрос регуляции p53 на белковом уровне за счет Zeb1 остается пока еще открытым.

Также было продемонстрировано, что подавление p53 приводит к изменениям морфологии, подвижности и пролиферативной активности клеток, которые свойственным для процесса ЭМП.

Важно отметить, что индукция Zeb1 способствует повышению выживаемости клеток MCF7 при генотоксическом стрессе за счет подавления p53, а также и тот факт, что при нокдауне p53 данный эффект усиливается.

Вполне закономерным результатом данной работы является то, что Zeb1 способствует приобретению устойчивости раковых клеток к генотоксической терапии. На

молекулярном уровне этот эффект объясняется интенсификацией процесса репарации ДНК.

Чтобы определить функциональные особенности белка Zeb1 в клетках РМЖ были выявлены новые белок-белковые взаимодействия Zeb1. Особенно следует подчеркнуть важность результата, демонстрирующего влияние статуса p53 в клетках на интерактом Zeb1.

На примере одного из взаимодействующих Zeb1 белков - транскрипционного корепрессора СТВР2 - выявлена достоверная значимость уровней совместной экспрессии этих двух факторов для выживаемости пациентов с раком молочной железы.

Общая характеристика работы

Диссертация С.Е. Парфеньева изложена на 165 страницах, построена по классическому плану и включает следующие главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение», «Выводы» и «Список цитируемой литературы», содержащий 267 наименований. Материалы диссертации иллюстрированы 31 рисунком и 3 таблицами.

Раздел «Обзор литературы» посвящен анализу современного состояния науки в области изучения молекулярных основ канцерогенеза и метастазирования. В этом разделе приведены также литературные данные, которые всесторонне характеризуют процесс эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП), рассмотрены основные факторы и молекулярные каскады, отвечающие за запуск и развитие данного процесса. Автором подробно описана структура белка p53, его роль в ключевых клеточных процессах с акцентом на роль p53 в клеточном ответе на генотоксический стресс. Описаны имеющиеся на сегодняшний день данные о p53-зависимой регуляции факторов семейства Zeb за счет микроРНК.

В своей диссертационной работе С.Е. Парфеньев использовала широкий спектр современных молекулярно-биологических методов и методов клеточной биологии, таких как культивирование различных клеточных линий, ОТ-ПЦР в режиме реального времени, вестерн-блоттинг, исследование пролиферации и миграции клеток в режиме реального времени. Особо хочется отметить метод исследования интерактома Zeb1 методом ко-иммунопреципитации с последующей масс-спектрометрией. Все использованные в работе методы адекватны поставленным задачам.

Достоверность результатов данного диссертационного исследования не вызывает сомнений. Описаны полученные результаты достаточно подробно, все эксперименты

имеют необходимые контроли. Важной особенностью данной работы является вдумчивое планирование экспериментов, что обеспечивает возможность четкой интерпретации полученных результатов. Так, полученная клеточная модель для изучения ЭМП на основе клеток линии MCF7 была дополнительно модифицирована с целью получения нокдауна p53, что являлось очень важным инструментом в контексте исследования роли p53 во всех вышеописанных процессах.

В разделе «Обсуждение» автор проводит критический анализ полученных результатов и их сравнение с имеющимися на сегодняшний день литературными данными. Выводы являются обоснованными и соответствуют поставленным задачам. Хочется особо отметить высокий уровень научных статей, опубликованных автором диссертации по теме работы.

Автореферат полностью отражает основное содержание и выводы работы.

В качестве замечаний к диссертационной работе С.Е. Парфеньева можно перечислить следующие:

1. Несмотря на в целом аккуратное оформление работы, в ней, однако, встречаются небрежности и опечатки. В оформлении рисунков отсутствует единообразие. Часть обозначений на них не читается. Сбита нумерация рисунков;
2. Отсутствует последовательность shRNA, использованных для получения нокдауна p53 в описанной автором клеточной модели;
3. Отсутствует описание метода кластеризации интерактантов Zeb1, выявленных с помощью масс-спектрометрического анализа;
4. Отсутствует алгоритм определения фаз клеточного цикла при его анализе методом проточной цитофлуориметрии.

Кроме того, при прочтении работы возникли следующие вопросы:

1. Семейство белков Zeb включает структурные гомологи Zeb1 и Zeb2. Проверяться ли способность фактора Zeb2 осуществлять негативную регуляцию активности p53?
2. Из первого вопроса следует второй. Семейство p53 также включает три белка, имеющих гомологичную структуру. Исследовали ли автор влияние Zeb1 на активность белков p63 и p73?
3. Также является интересным, является ли механизм Zeb1-зависимой регуляции p53 универсальным, распространяется ли он на клетки других типов рака?

Высказанные замечания не снижают высокий научный уровень диссертационной работы. Все полученные результаты являются достоверными, а выводы обоснованными.


По результатам данной диссертации опубликованы 7 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых международных и отечественных научных журналах из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ, а также 4 тезиса докладов на международных и отечественных конференциях. Таким образом, по степени представленности результатов в печатных работах и апробации на конференциях диссертационная работа С.Е. Парфеньева соответствует требованиям ВАК РФ.

Заключение

Представленная диссертация, выполненная на высоком научном и методическом уровне, представляет собой целостное и законченное исследование и заслуживает высокой оценки; в ходе её выполнения получены новые данные в рамках актуальной тематики. Перечисленные замечания не снижают научной значимости данной работы.

Диссертационная работа Сергея Евгеньевича «Подавление онкосупрессорной активности p53 с помощью транскрипционного фактора эпителиально-мезенхимального перехода – Zeb1 в клеточной модели рака молочной железы» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Альберт Анатольевич Ризванов, профессор, д.б.н., Ph.D.,
член-корреспондент Академии наук Республики Татарстан,
Директор научно-клинического центра прецизионной и регенеративной медицины,
профессор кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии,
заведующий отделом поисковых исследований НОЦ фармацевтики
Казанского (Приволжского) федерального университета


03.03.2022

