

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.151.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 25.03.2022 г. № 265/443

О присуждении **Парфеньеву Сергею Евгеньевичу** ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация **«Подавление онкосупрессорной активности p53 с помощью транскрипционного фактора эпителиально-мезенхимального перехода Zeb1 в клетках рака молочной железы»** по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология»

принята к защите 24 сентября 2021 года (протокол заседания № 259/434) диссертационным советом 24.1.151.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки (ФГБУН) Институт цитологии Российской Академии наук (РАН), 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4. Состав Совета утвержден приказом Минобрнауки РФ №105/нк от 11.04.2012; частичные изм. Совета утверждены Приказом №731/нк от 05.11.2013; частичные изм. Совета утверждены Приказом №155/нк от 09.02.2018; частичные изм. Совета утверждены Приказом №851/нк от 24.09.2019.

Соискатель Парфеньев Сергей Евгеньевич, «14» июня 1983 года рождения. В 2017 году соискатель окончил магистратуру Биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета (СПбГУ) по направлению «Биология».

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Подавление онкосупрессорной активности p53 с помощью транскрипционного фактора эпителиально-мезенхимального перехода Zeb1 в клетках рака молочной железы» защитил в 2022 году в диссертационном совете 24.1.151.01, созданном на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии РАН. Сергей Евгеньевич работает в Институте цитологии РАН с ноября 2017 г. сначала старшим лаборантом-исследователем, далее младшим научным сотрудником, а с февраля 2022 г. по настоящее время – научным сотрудником в Лаборатории регуляции экспрессии генов ИНЦ РАН.

Диссертация выполнена в Лаборатории регуляции экспрессии генов Института цитологии РАН в рамках прохождения аспирантуры в Институте цитологии РАН.

Научный руководитель – доктор биологических наук, проф. РАН Барлев Николай Анатольевич, заведующий Лабораторией регуляции экспрессии генов Института цитологии РАН.

Официальные оппоненты:

Ризванов Альберт Анатольевич, член-корреспондент Академии Наук Республики Татарстан, профессор, доктор биологических наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, заведующий Отделом поисковых исследований;

Кирсанов Кирилл Игоревич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н.Блохина, г. Москва, заведующий Лабораторией канцерогенных веществ

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки **Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук**, Москва в своём положительном отзыве, составленном Кудрявцевой Анной Викторовной, кандидатом биологических наук, заместителем директора по научной работе Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН и **утвержденном** ВРИО директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, доктором биологических наук, член-корреспондентом РАН С.Г. Георгиевой **указала**, что диссертация Парфеньева Сергея Евгеньевича на тему «Подавление онкосупрессорной активности p53 с помощью транскрипционного фактора эпителиально-мезенхимального перехода *Zeb1* в клетках рака молочной железы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой представлены принципиально новые результаты в области молекулярной онкологии. Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля

2016 года № 335 и от 02 августа 2016 года №748), а её автор, Парфеньев Сергей Евгеньевич, достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук, **и дала положительный отзыв на диссертационную работу.**

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, по теме диссертации 7 публикаций, в том числе 3 работы опубликованы в рецензируемых отечественных и международных научных изданиях.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Interplay between p53 and non-coding RNAs in the regulation of EMT in breast cancer. **Sergey Parfenyev**, Aastha Singh, Olga Fedorova, Alexandra Daks, Ritu Kulshreshtha and Nickolai A. Barlev. Cell Death & Disease. 2021.

Статья посвящена анализу p53-опосредованной регуляции основных транскрипционных факторов эпителиально-мезенхимального перехода с помощью некодирующих РНК при раке молочной железы.

2. Proteomic analysis of Zeb1 interactome in breast carcinoma cells. **Sergey E. Parfenyev**, Sergey V. Shabelnikov, Danila Y. Pozdnyakov, Olga O. Gnedina, Alexey G. Mittenberg, Leonid S. Adonin, Nickolai A. Barlev. Molecules. 2021.

Статья посвящена изучению интерактома Zeb1 в клеточной линии рака молочной железы MCF7.

3. Регуляция функций белка p53 в ответ на тепловой стресс. **С. Е. Парфеньев**, А. Н. Смотровая, М. А. Шкляева, Н. А. Барлев. Цитология, 2019.

Статья посвящена изучению регуляции мутантного по R175H белка p53 при тепловом стрессе в клетках MDA-MB-231 рака молочной железы.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Профессора кафедры генетики и биотехнологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, доктора биологических наук **Даева Евгения Владиславовича**. Отзыв положительный, имеются замечания и вопросы:

Отзыв положительный, имеются замечания и вопросы:

"... а) В автореферате, на мой взгляд, недостаточно полно охарактеризованы используемые клеточные линии «британского» происхождения

б) При снятии различных характеристик анализируемых образцов клеток автор вносит в каждую из лунок планшета то по 10, то по 30 или 40 тысяч клеток, Цифры даны без ошибок. Значит ли это, что автор каждый раз оценивал количество внесенных клеток с помощью цитометра, позволяющего отслеживать точное число клеток?

в) При оценке, например, миграционной способности клеток автор использовал прибор, измеряющий некие электрические параметры, прямо зависящие от числа клеток между электродами. Но можно ли это интерпретировать как скорость миграции? Вероятнее всего отражается просто доля (число, частота) мигрирующих клеток, Эта доля (Cell index) может быть большей или меньшей. При этом скорость может быть одинаковая (или даже меньшая)".
2. Доктора медицинских наук, старшего научного сотрудника Научно-исследовательского Центра Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, **Жекалова Андрея Николаевича**. Отзыв положительный, без замечаний.
3. Ведущего научного сотрудника Лаборатории биофизики синаптических процессов ИЭФБ РАН, кандидата биологических наук, **Николаева Максима Владимировича**. Отзыв положительный, без замечаний.

4. Кандидата биологических наук, сотрудника Детской больницы Лос-Анджелеса, **Васильевой Елены Андреевны**. Отзыв положительный, без замечаний.
5. Кандидата биологических наук, PhD, сотрудника Лаборатории Кардиоваскулярной генетики Центра Сердечных Аритмий Генетического Происхождения (Милан, Италия) **Худякова Александра Александровича**. Отзыв положительный, имеется вопрос: "...сопоставима ли роль других основных транскрипционных факторов (Snail, Slug, Zeb2, Twist), принимающих участие в ЭМП, с ролью Zeb1 в запуске ЭМП на модели карциномы молочной железы и способны ли эти факторы запускать ЭМП в одиночку?"

В дискуссии принимали участие:

Елена Сергеевна Корнилова (д.б.н., проф., председатель Диссертационного Совета, Институт цитологии РАН); Софья Юрьевна Хайтлина (д.б.н., член Диссертационного Совета, Институт цитологии РАН); Сергей Орестович Скарлато (д.б.н., член Диссертационного Совета, Институт цитологии РАН).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов в области молекулярной биологии, в частности исследования молекулярных механизмов онкогенеза, а так же в использовании протеомного подхода.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея о механизме, посредством которого транскрипционный фактор Zeb1 подавляет ключевой онкосупрессор p53 в раковых клетках человека, расширяющая современные знания о механизмах опухолевой трансформации;

предложена гипотеза, в соответствии с которой активация экспрессии

ZEB1 при генотоксическом стрессе приводит к повышению уровня DNA-РК, ключевого участника негомологичной репарации, что в свою очередь усиливает скорость репарации ДНК;

доказано, что гетерологическая экспрессия *ZEB1* в эпителиальных клетках MCF7 приводит к частичному эпителиально-мезенхимальному переходу;

доказано, что активация экспрессии *ZEB1* в клетках MCF7 повышает их устойчивость к генотоксическому стрессу, а подавление p53, наоборот, повышает восприимчивость;

введены новые представления о влиянии уровня белка p53 на спектр взаимодействующих с Zeb1 белков, участвующих в клеточном цикле, апоптозе, миграции, инвазии и других процессах, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, расширяющие существующие представления о регуляции экспрессии, белковых взаимодействиях и роли в канцерогенезе онкосупрессора p53;

изложены новые экспериментальные данные о белках-онкогенах, чье взаимодействие с Zeb1 зависит от уровня белка p53;

раскрыт новый регуляторный механизм, замыкающий петлю обратной отрицательной связи между Zeb1 и p53, который углубляет теоретическое понимание взаимодействия различных регуляторных факторов в метастазирующих раковых клетках;

изучен механизм влияния p53 на резистентность клеток рака молочной железы к воздействию генотоксическими препаратами в ходе эпителиально-мезенхимального перехода;

проведена актуализация представлений о роли эпителиально-мезенхимального перехода в повышении резистентности раковых клеток к воздействию на них противоопухолевыми препаратами;

применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс классических и современных методов, включая работу с клеточными линиями, вестерн-блот анализ, ПЦР в режиме реального времени, исследование пролиферации и миграции клеток в режиме реального времени, метод раны, белковую ко-иммунопреципитацию, масс-спектрометрический анализ.

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

получены данные, подтверждающие влияние эпителиально-мезенхимального перехода на клеточный цикл, устойчивость клеток к генотоксическим препаратам и интенсивность репарации ДНК. Эти знания могут быть использованы в разработках новых стратегий терапии пациентов, больных раком молочной железы;

определены новые направления исследований Zeb1-опосредованных межбелковых взаимодействий, имеющих значимость для прогнозирования выживаемости больных онкологическими заболеваниями.

создана экспериментальная база для изучения индуцированного в клеточной культуре влияния эпителиально-мезенхимального перехода с целью определения влияния данного процесса на морфологические и функциональные свойства клеток.

представлены материалы, которые могут быть включены в курсы лекций по онкологии и молекулярной биологии для студентов вузов биологического профиля.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ было использовано сертифицированное оборудование, выбор методов полностью обоснован спецификой работы и соответствует поставленным задачам в работе;

теория построена на проверяемых достоверных данных и согласуется с результатами, полученными и опубликованными другими авторами в данной области;

идея базируется на анализе и обобщении полученных экспериментальных данных о роли p53 в подавлении ключевых регуляторов эпителиально-мезенхимального перехода;

установлено, что результаты, полученные автором, согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такие сравнения являются обоснованными;

- **использованы** современные методики сбора и обработки информации, представительные выборочные совокупности при статистической обработке данных при анализе интерактома, оценке результатов ПЦР в реальном времени, анализе пролиферации и миграции клеток в режиме реального времени.

Личный вклад соискателя состоит в:

подготовке и проведении экспериментов, получении, обработке, анализе и интерпретации экспериментальных данных, апробации полученных результатов, подготовке публикаций.

Диссертация Парфеньева Сергея Евгеньевича «Подавление онкосупрессорной активности p53 с помощью транскрипционного фактора эпителиально-мезенхимального перехода Zeb1 в клеточной модели рака молочной железы» является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием в области молекулярной биологии, которое содержит решение научной задачи, имеющей большое значение для понимания воздействия Zeb1 на активность p53 в ходе эпителиально-мезенхимального перехода. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных С.Е. Парфеньевым работах, в которых изложены основные научные

результаты диссертации. Диссертационная работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, ред. от 20 марта 2021 года) по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания и вопросы дискуссионного характера, касающиеся: взаимодействия онкосупрессора p53 с транскрипционным фактором Zeb1 в нормальных клетках млекопитающих и в используемой в данной диссертационной работе клеточной модели; корректности интерпретации данных, полученных с помощью масс-спектрометрического анализа; применения термина «нестабильность генома» в рамках данной работы; корректности описания взаимосвязи повышенной экспрессии генов, кодирующих Zeb1 и его корепрессор СТBP2, с продолжительностью жизни у пациентов, больных раком молочной железы.

Соискатель С.Е. Парфеньев согласился с замечаниями, ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию относительно: особенностей взаимной регуляции p53 и Zeb1 в используемой клеточной модели; влияния уровня белка p53 на спектр взаимодействующих с Zeb1 белков, а также адекватности применения используемой модели для оценки интерактома; обоснованности выбора одного из интерактантов Zeb1 – белка СТBP2 для валидации взаимодействия и оценки функциональной значимости его взаимодействия с Zeb1.

На заседании 25 марта 2022 года диссертационный совет принял решение за новые научно обоснованные представленные результаты работы, за решение научной задачи, имеющей значение для развития области молекулярной биологии, а именно механизмов регуляции онкосупрессора p53 транскрипционным фактором Zeb1 присудить Парфеньеву С.Е. ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 11 докторов наук по специальности 1.5.3. - "Молекулярная биология", участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «ЗА» – 22, «ПРОТИВ» – нет.

Председатель заседания,
Председатель Диссертационного совета
24.1.151.01 (Д 002.230.01)
доктор биологических наук, профессор



И.И. Марахова
И.И. Марахова

Ученый секретарь
Диссертационного совета
24.1.151.01 (Д 002.230.01)
доктор биологических наук

И.И. Марахова
И.И. Марахова

28.03.2022 г.