

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны
«Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее
использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе
экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.01.02.- биофизика.

Разработка новых методов и подходов для терапии опухолей является на сегодняшний день актуальной областью биологии и медицины. Среди существующих подходов таргетная, или направленная терапия опухолей – одно из самых перспективных направлений в экспериментальной онкологии. Актуальность темы диссертации Соколовой Евгении Александровны несомненна, поскольку она посвящена разработке флуоресцирующей модели опухоли и ее применению для оценки эффективности инновационного рекомбинантного агента для таргетной терапии, состоящего из направляющего модуля, узнающего онкомаркер HER2, и токсического модуля - фрагмента PE40 псевдомонадного экзотоксина А. Как следует из автореферата, Е.А. Соколовой получены принципиально новые результаты. Впервые создана ксенографтная модель опухоли со стабильной экспрессией дальне-красного флуоресцентного белка Katushka и показана ее высокая информативность для прижизненной визуализации опухоли неинвазивным методом флуоресцентного имиджинга. Впервые продемонстрирована эффективность использования этой модели для оценки действия противоопухолевых агентов. С применением модели впервые показано избирательное связывание рекомбинантного иммунотоксина с поверхностью опухолевых клеток и выявлены механизмы его интернализации. Впервые показано, что рекомбинантный иммунотоксин имеет распределение характерное для молекул псевдомонадного экзотоксина А дикого типа. Работа представляет интерес с точки зрения фундаментального исследования механизмов проникновения модульных агентов направленного действия в клетку, а также закладывает основу для разработки противоопухолевых препаратов и моделей для прижизненной визуализации опухолей.

Безусловным достоинством исследования является комплексный подход к решению поставленных задач, заключающийся в использовании биофизических методов иммунофлуоресцентного анализа и конфокальной микроскопии, флуоресцентного имиджинга, ингибиторного анализа, методов поверхностного плазмонного резонанса и проточной цитофлуометрии. Автор также использовала методы молекулярной биологии для наработки рекомбинантного иммунотоксина в бактериальной системе экспрессии и методы биохимии для его очистки. Для получения клеточной линии со стабильной экспрессией флуоресцентного белка Katushka были использованы методы клеточной биологии. В целом, диссертационная работа Е.А. Соколовой является примером успешного применения биофизических методов и подходов в молекулярной онкологии. Достоверность приведенных в работе данных не вызывает сомнения. Выводы основаны на полученных результатах и соответствуют поставленным задачам. По материалам диссертации опубликовано семь статей в журналах, рекомендованных ВАК, имеется патент на изобретение. Кроме того, результаты исследования неоднократно докладывались на конференциях.

Вопросы.

1. В выводе 4 говорится о «специфическом связывании иммунотоксина с рецептором HER-2». Какие полученные данные автор считает доказательством специфического связывания с рецептором? На мой взгляд, автор приводит доказательства связывания иммунотоксина с цитоплазматической мембраной опухолевых клеток, но не с рецептором HER-2. Поскольку иммунотоксин представляет собой модифицированное рекомбинантное антитело, то необходимым и достаточным доказательством его специфичности будет вестерн-блот мембранных или тотальных белков опухолевых клеток, на котором иммунотоксин должен узнавать *единственную* полосу, соответствующую полипептиду с молекулярным весом рецептора HER-2. Это простое доказательство в автореферате отсутствует. Данные, приведенные на Рис. 10-Г, не могут служить косвенным доказательством, поскольку не продемонстрирована специфичность конкурирующего агента – антитела 4D5scFv.
2. Ключевое слово в диссертации - «таргетный». Являются ли опухолевые клетки единственной мишенью иммунотоксина в организме мышей-опухоленосителей? На этот вопрос мог бы ответить простой эксперимент по Вестерн-блот анализу различных тканей мыши. Если антиген, узнаваемый иммунотоксином, локализован не только в ксенографте, но и в здоровых тканях, то теоретически можно предсказать риск его использования для терапии из-за побочных эффектов.

В заключение отмечу, что диссертация Е.А. Соколовой «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А» по актуальности темы, методическому уровню, новизне и достоверности полученных результатов, их теоретической и практической значимости представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Е.А. Соколова заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Ведущий научный сотрудник

Лаборатории молекулярной физиологии клетки

Института биофизики клетки РАН,

доктор биологических наук (специальность биофизика)

Марина Федоровна Быстрова

21 февраля 2017 года

Федеральное государственное бюджетное



Подпись
М.Ф. Быстрова
Достоверно
[подпись]

учреждение науки Институт биофизики

клетки РАН

142290, Россия, Пущино, ул. Институтская, д. 3

Тел.: (4967) 739308

Факс: (4967) 330509

e-mail: admin@icb.psn.ru

Сведения об авторе отзыва на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Быстрова Марина Федоровна

Ученая степень: доктор биологических наук, специальность биофизика.

Должность: ведущий научный сотрудник.

Место работы: лаборатория молекулярной физиологии клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биофизики клетки Российской академии наук

Адрес: 142290, г. Пушкино Московской области, ул. Институтская, д. 3

Тел.: ...(4967) 739308

e-mail: admin@icb.psn.ru

Список основных публикаций Быстровой Марины Федоровны по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Cherkashin A.P., Kolesnikova A.S., Tarasov M.V., Romanov R.A., Rogachevskaja O.A., **Bystrova** M.F., Kolesnikov S.S. Expression of calcium-activated chloride channels Ano1 and Ano2 in mouse taste cells // Pflugers Arch. 2016. V.468(2). P.305-19;
2. Kotova P.D., Sysoeva V.Y., Rogachevskaja O.A., **Bystrova** M.F. et al. Functional expression of adrenoreceptors in mesenchymal stromal cells derived from the human adipose tissue // Biochim Biophys Acta. 2014. V.1843(9). P.1899-908;
3. Kabanova N.V., Vassilevski A.A., Rogachevskaja O.A., **Bystrova** M.F. et al. Modulation of P2X3 receptors by spider toxins // Biochim Biophys Acta. 2012. V.1818(11). P.2868-75;
4. Kolesnikova A.S., Khokhlov A.A., Romanov R.R., **Bystrova** M.F. Differential expression patterns of peroxiredoxins in olfactory neurons // Биологические мембраны, 2014, т.31, 4, с.1-8.

Ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной физиологии клетки Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биофизики клетки Российской академии наук, доктор биологических наук

Быстрова Марина Федоровна

21 февраля 2017 г.



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны
«Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека
и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина
на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Разработка новых методов и подходов для диагностики и терапии онкологических заболеваний на сегодняшний день – одна из наиболее актуальных задач современной биологии и медицины. Благодаря прогрессу в изучении молекулярных основ канцерогенеза, в последнее десятилетие все большую роль наряду с хирургией и традиционной химиотерапией начинает играть таргетная терапия, позволяющая осуществлять адресную доставку терапевтических агентов к раковым клеткам. Одним из инновационных направлений в клинической онкологии является применение иммунотоксинов – токсичных молекул, соединенных с опухолеспецифичными антителами, для таргетной терапии онкологических заболеваний.

Актуальным является также разработка методов и моделей, позволяющих быстро и относительно недорого проводить фармакологические исследования инновационных онкологических препаратов.

Соколова Е.А. внесла существенный вклад в решение ряда актуальных задач биофизики и биомедицины. В работе предложена ксенографтная модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли, которая позволяет прижизненно проводить мониторинг роста опухоли с помощью набирающего популярность в настоящее время неинвазивного флуоресцентного имиджинга. Продемонстрирована возможность количественной оценки роста опухоли и эффективной визуализации терапевтического эффекта на ранних стадиях развития опухоли. В качестве таргетного препарата был разработан иммунотоксин на основе HER2-специфичного антитела 4D5scFv и фрагмента экзотоксина А бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (PE40). Автором доказана эффективность и специфичность разработанного иммунотоксина по отношению к раковым клеткам с разным уровнем экспрессии рецептора HER2, а также определен механизм его цитотоксического действия.

Полученные диссертантом результаты позволяют говорить о перспективности использования: рекомбинантного иммунотоксина 4D5scFv-PE40 в качестве агента для таргетной терапии HER₂-гиперэкспрессирующих опухолей, а полученной ксенографтной модели *Katushka*- и HER₂-гиперэкспрессирующей опухоли – в оценке эффективности таргетных препаратов на ранних стадиях развития опухоли.

В качестве замечаний, не снижающих общую высокую оценку данной диссертации, следует отметить недостаточную информацию в автореферате о полученном

иммунотоксине (в каком виде (растворимый, тельца включения) нарабатывался белок в клетках, в какой концентрации, где секретировался, степень его очистки)? В автореферате отсутствует также обоснование выбора токсического модуля иммунотоксина. Возможно данная информация представлена в тексте самой диссертации.

Следует особо отметить, что результаты были опубликованы в нескольких международных научных журналах, имеющих высокий индекс цитирования, и представлены на ряде всероссийских и международных конференций и семинаров. Автором получен патент РФ на изобретение.

В целом научная новизна и практическая значимость полученных результатов позволяют сделать вывод о том, что автореферат и диссертационная работа Соколовой Е.А. «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А» полностью отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – «Биофизика», а ее автор безусловно, заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Профессор кафедры физики полупроводников
факультета нано- и биомедицинских технологий
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Саратовский национальный
исследовательский государственный университет имени
Н.Г. Чернышевского», доктор химических наук, доцент



Горин Дмитрий Александрович

« 27 » 02 2017 г.

Контактная информация:

Адрес: 410012, Саратов, ул. Астраханская, д. 83, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Тел.: +7 (8452) 51-11-81, e-mail: gorinda@mail.ru

Сведения об авторе отзыва на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Горин Дмитрий Александрович

Ученая степень: доктор химических наук

Ученое звание: доцент

Должность: профессор

Место работы: кафедра физики полупроводников, факультет нано- и биомедицинских технологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Адрес: 410012, Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Тел.: +7 (8452) 51-11-81

e-mail: gorinda@mail.ru

Список основных публикаций Горина Дмитрия Александровича по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Voronin D.V., Sindeeva O., Kurochkin M., Mayorova O., Fedosov I., Semyachkina-Glushkovskaya O., Gorin D.A., Tuchin V.V., Sukhorukov G.B. In vitro and in vivo visualization and trapping of fluorescent magnetic microcapsules in a blood stream // ACS Appl Mater Interfaces. 2017. doi: 10.1021/acsami.6b15811.
2. Timin A.S., Lepik K.V., Muslimov A.R., Gorin D.A., Afanasyev B.V., Sukhorukov G.B. Intracellular redox induced drug release in cancerous and mesenchymal stem cells // Colloids Surf B Biointerfaces. 2016. V.147. P.450-8.
3. Genina E.A., Svenskaya Y.I., Yanina I.Y., Dolotov L.E., Navolokin N.A., Bashkatov A.N., Terentyuk G.S., Bucharskaya A.B., Maslyakova G.N., Gorin D.A., Tuchin V.V., Sukhorukov G.B. In vivo optical monitoring of transcutaneous delivery of calcium carbonate microcontainers // Biomed Opt Express. 2016. V.7(6). P.2082-7.
4. Svenskaya Y.I., Pavlov A.M., Gorin D.A., Gould D.J., Parakhonskiy B.V., Sukhorukov G.B. Photodynamic therapy platform based on localized delivery of photosensitizer by vaterite submicron particles // Colloids Surf B Biointerfaces. 2016. V.146. P.171-9.

5. Svenskaya Y., Parakhonskiy B., Atkin V., Gorin D., Haase A., Antolini R., Lukyanets E. Anticancer drug delivery system based on calcium carbonate particles loaded with a photosensitizer // Biophysical chemistry. 2013. V.182. P.11-15.

Профессор кафедры физики полупроводников
факультета нано- и биомедицинских технологий Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Саратовский национальный
исследовательский государственный университет имени
Н.Г. Чернышевского», доктор химических наук, доцент



Горин Дмитрий Александрович
« 27 » 02 2017 г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны
«Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека
и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина
на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Работа Евгении Александровны посвящена развитию одного из важных современных направлений в биомедицине – таргетной терапии злокачественных опухолей. Цели, которые поставил автор в работе, условно можно разделить на две части: это создание флуоресцирующей модели HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и создание иммунотоксина, способного «находить» и «убивать» клетки опухоли, экспрессирующие рецептор HER2. В ходе выполнения этой сложной работы автором получены линия опухолевых клеток SKOV-kat с экспрессией дальнекрасного флуоресцентного белка TurboFP635 (Katushka) и ксенографтная опухоль на её основе. Показано, что за особенностями развития такой опухоли удобно следить методом поверхностного флуоресцентного имиджинга. На следующем этапе работы получен иммунотоксин 4D5scFv-PE40 и проведена оценка его противоопухолевой эффективности. Исследованы специфичность, внутриклеточная локализация и механизм избирательного цитотоксического действия, полученного иммунотоксина. Хочу подчеркнуть, что за каждым из выше перечисленных слов стоят очень подробные исследования с множеством контролей и проверок.

Автореферат написан понятным языком и хорошо иллюстрирован.

Исходя из объема и качества выполненных исследований очевидно, что диссертационная работа Евгении Александровны Соколовой соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842) для ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – «биофизика».

ведущий научный сотрудник,
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт белка Российской академии наук,
доктор физико-математических наук

Мельник Богдан Степанович

« 27 » февраль 2017 г.

Контактная информация:

Адрес: 142290, г. Пущино Московской области, ул. Институтская, д. 4,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук
Тел.: 8(4967) 31-82-71. e-mail: bmelnik@phys.protnes.ru



Сведения об авторе отзыва на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Мельник Богдан Степанович

Ученая степень: доктор физико-математических наук

Ученое звание: нет

Должность: ведущий научный сотрудник, зав. группой спектроскопии белка.

Место работы: Группа спектроскопии белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт белка Российской академии наук

Адрес: 142290, г. Пущино Московской области, ул. Институтская, д. 4

Тел.: 8(4967) 31-82-71

e-mail: bmelnik@phys.protres.ru

Список основных публикаций Мельника Богдана Степановича по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Glukhova K.F., Marchenkov V.V., Melnik T.N., Melnik B.S. Isoforms of green fluorescent protein differ from each other in solvent molecules 'trapped' inside this protein // J Biomol Struct Dyn. 2016. P.1-11;
2. Воробьев И.И., Проскурина О.В., Ходак Ю.А., Государев А.И., Семихин А.С., Бырихина Д.В., Красильщикова М.С., Мельник Б.С., Серебрякова М.В., Ползиков М.А. Физико-химические свойства, токсичность и специфическая активность биоаналогового фоллитропина альфа // Химико-фармацевтический журнал. 2016. Т.50(11). С.35-42;
3. Melnik B.S., Povarnitsyna T.V., Glukhov A.S., Melnik T.N., Uversky V.N. SS-Stabilizing Proteins Rationally: Intrinsic Disorder-Based Design of Stabilizing Disulphide Bridges in GFP // J Biomol Struct Dyn. 2012. V.29(4). P.815-24;

4. Melnik T.N., Povarnitsyna T.V., Glukhov A.S., Melnik B.S. Multi-state proteins: approach allowing experimental determination of the formation order of structure elements in the green fluorescent protein // PLoS One. 2012. V.7(11). P.e48604;
5. Guryanov S.G., Selivanova O.M., Nikulin A.D., Enin G.A., Melnik B.S., Kretov D.A., Serdyuk I.N., Ovchinnikov L.P. Formation of amyloid-like fibrils by Y-box binding protein 1 (YB-1) is mediated by its cold shock domain and modulated by disordered terminal domains // PLoS One. 2012. V.7(5). P.e36969.

ведущий научный сотрудник,

Федерального государственного бюджетного учреждения

науки Институт белка Российской академии наук,

доктор физико-математических наук



Мельник Богдан Степанович

« 27 » февраль 2017 г.



Собственноручная подпись
 тов. Мельника Б.С.
 удостоверяется
 Подпись *Мельника Б.С.*
Реш. из РН
А.Г. О.А. АДН

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны
«Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли
яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного
иммунотоксина на основе экзотоксина А», представленной на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 –
биофизика

Актуальность темы диссертационной работы не вызывает сомнений, так как посвящена изучению молекулярных основ канцерогенеза, а именно идентификации молекулярной мишени HER2 – трансмембранная рецепторная тирозинкиназа, гиперэкспрессия которой связана с быстрым прогрессированием и повышенным метастатическим потенциалом опухоли. С точки зрения биофизики белков интересным является изучение свойств флуоресцентных белков как генетически кодируемых маркеров опухолевых клеток в экспериментальной онкологии. В связи с чем автором перед была поставлена цель - получить флуоресцирующую модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека для изучения эффективности созданного HER2-специфичного иммунотоксина.

Диссертантом на достаточно большом экспериментальном материале впервые создана ксенографтная модель аденокарциномы яичника человека, характеризующаяся гиперэкспрессией рецептора HER2 и стабильной экспрессией дальнекрасного флуоресцентного белка Katushka, спектр эмиссии которого лежит в области терапевтического окна прозрачности биологических тканей. Показана высокая информативность созданной модели для прижизненной визуализации опухоли в организме животного неинвазивным методом флуоресцентного имиджинга и продемонстрированы возможности ее использования для высокоэффективной оценки действия противоопухолевых агентов.

Впервые получен рекомбинантный иммунотоксин 4D5scFv-PE40, содержащий в составе анти-HER2 антитело 4D5scFv и фрагмент псевдомонадного экзотоксина А. Установлен механизм избирательного цитотоксического действия 4D5scFv-PE40: показано аффинное и высокоизбирательное связывание иммунотоксина с рецептором HER2 на поверхности опухолевых клеток, клатрин-опосредованная интернализация и распределение в компартментах клетки, характерное для молекулы псевдомонадного экзотоксина А дикого типа, ингибирование биосинтеза белка и последующая гибель клеток по пути апоптоза.

Полученные результаты указывают на возможность практического использования модели. Полученный и исследованный рекомбинантный иммунотоксин 4D5scFv-PE40 представляет интерес в качестве потенциального агента для таргетной терапии HER2-гиперэкспрессирующих опухолей и в перспективе может быть включен в схемы терапии этой группы новообразований.

Диссертация Соколовой Евгении Александровны «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А», является законченной научной работой, выполненной под руководством д.б.н., член-корр. РАН, профессора Деева С.М., в которой для решения актуальной научной задачи были использованы современные биофизические и молекулярно-биологические методики.

Автореферат и 21 печатная работа полностью отражают содержание диссертации. Достоверность исследования подтверждают большой объем экспериментального материала и применение современных методик анализа и обработки данных.

Замечаний по содержанию и оформлению автореферата нет.

Диссертационная работа Соколовой Е.А. полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской

Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Заведующий кафедрой нормальной физиологии
им. Н.Ю. Беленкова Федерального
государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Нижегородская государственная медицинская
академия» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор биологических наук, профессор

Мухина Ирина Васильевна

« 09 » марта 2017 г.

Контактная информация:

Адрес: 603005 г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Нижегородская государственная медицинская
академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Тел.: +7(831) 4390943

e-mail: mukhinaiv@mail.ru

Подпись д.б.н., проф. Мухиной И.В. заверяю.

Ученый секретарь, д.б.н.



Андреева Н.Н.

Сведения об авторе отзыва на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Мухина Ирина Васильевна

Ученая степень: доктор биологических наук

Ученое звание: профессор

Должность: заведующий кафедрой

Место работы: кафедра нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 603081 г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 70

Тел.: +7(831) 465-53-06

e-mail: mukhinaiv@mail.ru

Список основных публикаций Мухиной Ирины Васильевны по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Vedunova M.V., Timashev P.S., Mishchenko T.A., Mitroshina E.V., Koroleva A.V., Chichkov B.N., Panchenko V.Y., Bagratashvili V.N., Mukhina I.V. Formation of Neural Networks in 3D Scaffolds Fabricated by Means of Laser Microstereolithography // Bull Exp Biol Med. 2016. V.161(4). P.616-21;
2. Vedunova M.V., Mishchenko T.A., Mitroshina E.V., Ponomareva N.V., Yudintsev A.V., Generalova A.N., Deyev S.M., Mukhina I.V., Semyanov A.V., Zvyagin A.V. Cytotoxic effects of upconversion nanoparticles in primary hippocampal cultures // RSC Advances. 2016. V.6(40). P.33656-33665;
3. Vedunova M.V., Shishkina T.V., Mishchenko T.A., Mitroshina E.V., Astrakhanova T.A., Pimashkin A.S., Mukhina I.V. Antihypoxic and

Neuroprotective Effects of Glial Cell-Derived Neurotrophic Factor (GDNF) in Cultures of Dissociated Hippocampal Cells under Conditions of Experimental Hypoxia // Bull Exp Biol Med. 2016. V.161(1). P.168-74;

4. Vedunova M.V., Mishchenko T.A., Mitroshina E.V., Mukhina I.V. TrkB-Mediated Neuroprotective and Antihypoxic Properties of Brain-Derived Neurotrophic Factor // Oxid Med Cell Longev. 2015. V.2015. P.453901;

5. Кухаренко А.Е., Бабаев А.А., Щелчкова Н.А., Лапшин Р.Д., Ведунова М.В., Гравель И.В., Мухина И.В., Ловцова Л.В. Оценка общей токсичности и иммунологической безопасности новой терапевтической вакцины против ВПЧ-ассоциированных заболеваний // Современные технологии в медицине. 2015. Т.7(2). С.92-98;

6. Vedunova M.V., Mitroshina E.V., Sakharnova T.A., Bobrov M.Y., Bezuglov V.V., Khaspekov L.G., Mukhina I.V. Effect of N-arachidonoyl dopamine on activity of neuronal network in primary hippocampus culture upon hypoxia modeling // Bull Exp Biol Med. 2014. V.156(4). P.461-4.

Заведующий кафедрой нормальной физиологии
им. Н.Ю. Беленкова Федерального
государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Нижегородская государственная медицинская
академия» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор биологических наук, профессор



Мухина Ирина Васильевна

« 09 » марта 2017 г.

Подпись д.б.н., проф. Мухиной И.В. заверяю.

Ученый секретарь, д.б.н.




Андреева Н.Н.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны
«Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека
и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина
на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Диссертационная работа Е.А. Соколовой посвящена созданию флуоресцирующей модели опухоли человека с высокой экспрессией онкомаркера HER2 и исследованию с её помощью свойств нового соединения для таргетной терапии. Актуальность данной работы несомненна и обусловлена в первую очередь практической значимостью разработки высокоинформативных методов доклинических исследований и новых терапевтических подходов к лечению онкологических заболеваний. Кроме того, детальное исследование механизмов действия рекомбинантного белка на основе псевдомонадного экзотоксина А определяет фундаментальную значимость работы.

Собственно говоря, Е.А. Соколовой выполнены две важные работы, и по каждой можно было бы подготовить диссертацию. Одна из них - создание флуоресцирующей модели HER2-положительной аденокарциномы яичника человека на иммунодефицитном животном. Ее флуоресценция в дальнекрасной области спектра за счет экспрессии флуоресцентного белка позволяет «увидеть» опухоль, растущую в организме. При этом спектральные свойства выбранного белка подобраны так, что они обеспечивают высокую глубину визуализации в организме животного и количественно оценивать динамику роста опухоли с помощью методов флуоресцентного имиджинга. Этот метод позволяет тестировать разнообразные противоопухолевые агенты. Его информативность продемонстрирована на примере известного химиопрепарата цисплатина и нового цитотоксического белка.

Другая часть представленного исследования, которая могла бы быть самостоятельной диссертационной работой - создание и исследование свойств нового таргетного иммунотоксина, сконструированного на основе фрагмента антитела и экзотоксина А. В этой работе Е.А. Соколова использовала разнообразные методы молекулярной и клеточной биологии. Она изучила механизмы интернализации иммунотоксина, его внутриклеточного транспорта и показала, как за счет блокады синтеза белка реализуется цитотоксическое действие этого иммунотоксина. Считаю, что дальнейшая разработка обоих подходов весьма перспективна и послужит основой для разработки и исследования новых таргетных противоопухолевых препаратов.

Работа Е.А. Соколовой выполнена на высоком методическом уровне имеет большое теоретическое и практическое значение. Об этом свидетельствуют публикации семи статей в высокорейтинговых международных и отечественных журналах, получение патента на изобретение и представление полученных результатов на авторитетных отечественных и зарубежных научных конференциях.

Учитывая актуальность, научную новизну, достоверность выводов, уровень публикаций, теоретическую и практическую значимость, считаю, что диссертация Соколовой Е.А. полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Главный научный сотрудник
Академии биологии и биотехнологии
Федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Южный федеральный
университет»,
доктор биологических наук, профессор



Узденский Анатолий Борисович
« 22 » 02 2017 г.

Контактная информация:

Адрес: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

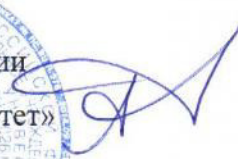
Академия биологии и биотехнологии ЮФУ

Тел.: +7(863) 243-31-11

e-mail: auzd@sfedu.ru

Подпись А.Б. Узденского заверяю

Директор Академии биологии и биотехнологии
ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»



Айдаркин Е.К.

Сведения об авторе отзыва на автореферат диссертации Соколовой Евгении Александровны «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Узденский Анатолий Борисович

Ученая степень: доктор биологических наук

Ученое звание: профессор

Должность: главный научный сотрудник

Место работы: Академии биологии и биотехнологии

Федерального государственного автономного образовательного

Адрес: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

Академия биологии и биотехнологии ЮФУ

Тел.: +7(863) 243-31-11

e-mail: auzd@sfedu.ru

Список основных публикаций Узденского Анатолия Борисовича по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет:

1. Uzdensky A., Kristiansen B., Moan J., Juzeniene A. Dynamics of signaling, cytoskeleton and cell cycle regulation proteins in glioblastoma cells after sub-lethal photodynamic treatment: Antibody microarray study. - Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects. 2012, 1820, 795-803
2. Kovaleva V.D., Berezhnaya E.V., Komandirov M.A., Rudkovskii M.V., Uzdensky A.B. Involvement of nitric oxide in photodynamic injury of neurons and glial cells. // Nitric oxide. 2013. 29, 46-52.
3. Uzdensky AB, Demyanenko SV, Bibov MY. Signal Transduction in Human Cutaneous Melanoma and Target Drugs. Curr Cancer Drug Targets. 2013, V.13, N 8, 843-866.
4. Demyanenko, S.V., Uzdensky, A.B., Sharifulina, S.A., Lapteva, T.O., Polyakova, L.P. PDT-induced epigenetic changes in the mouse cerebral cortex: A protein microarray study. Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects 2014, 1840 (1), pp. 262-270
5. Uzdensky A, Demyanenko S, Bibov M, Sharifulina S, Kit O, Przhedetski Y, Pozdnyakova V. Expression of proteins involved in epigenetic regulation in human cutaneous melanoma and peritumoral skin. Tumor Biology: 35, 8 (2014), 8225-8233.

6. Uzdensky AB, Berezhnaya E, Kovaleva V, Neginskaya M, Rudkovskii M, Sharifulina S. Photodynamic therapy: a review of applications in neurooncology and neuropathology. J Biomed Opt. 2015 Jun;20(6):61108.
7. A. Uzdensky, E. Berezhnaya, A. Khaitin, V. Kovaleva, M. Komandirov, M. Neginskaya, M. Rudkovskii, S. Sharifulina. Protection of the Crayfish Mechanoreceptor Neuron and Glial Cells from Photooxidative Injury by Modulators of Diverse Signal Transduction Pathways //Mol Neurobiol. 2015, 52, 2, pp 811-825.
8. Узденский А.Б. Биофизические аспекты фотодинамической терапии. Биофизика, 2016, 61, 3, 547-557.
9. Uzdensky A., Demyanenko S., Fedorenko G., Lapteva T., Fedorenko A. "Photothrombotic infarct in the rat brain cortex: Protein profile and morphological changes in penumbra" Molecular Neurobiology, 2016, 53,5, 1-17.
10. Demyanenko S., Uzdensky A. Profiling of signaling proteins in penumbra after focal photothrombotic infarct in the rat brain cortex. Molecular Neurobiology, 2016, DOI: 10.1007/s12035-016-0191-x
11. Kovaleva V.D., Uzdensky A.B. "Photodynamic therapy-induced nitric oxide production in neuronal and glial cells," J. Biomed. Opt. **21**(10), 105005 (2016), doi: 10.1117/1.JBO.21.10.105005.

Главный научный сотрудник
Академии биологии и биотехнологии
ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»,
доктор биологических наук, профессор



Узденский Анатолий Борисович
«22» 02 2017 г.