

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу АЖИБЕКА Дулата Мейирбековича «Ингибирование теломеразы человека» представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Теломераза один из самых интересных каталитических комплексов в клетке, наряду с рибосомой и протеосомой она жизненно необходима для правильного функционирования клетки. Теломераза – комплексный фермент, состоящий из РНК и белка. Этот фермент необходим для неограниченного числа делений клетки и активируется в 80-90% типов опухолевых клеток.

Концы хромосом млекопитающих состоят из повторяющихся последовательностей TTAGGG, взаимодействующих со специфическими белками. Такие концевые ДНК- белковые структуры называются теломерами. При делении клетки длина теломер сокращается за счет недорепликации концов хромосом. Сокращение длины теломер до критического уровня приводит к активации программируемой гибели клетки. Основная функция теломеразы заключается в удлинении/поддержании длины теломер за счет синтеза повторяющейся последовательности ДНК на концах хромосом.

Теломераза является одной из мишеней при терапии раковых заболеваний. Выключение работы теломеразы приводит к сокращению количества теломерных повторов на концах хромосом с каждым делением опухолевой клетки, что приводит к последующей гибели клетки.

В связи с вышесказанным, перед автором диссертационной работы стояла сложнейшая задача – провести дизайн новых химерных ингибиторов теломеразы олигонуклеотидной природы, изучить влияние их структуры на ингибирующую способность и определить стадии биогенеза или работы теломеразы, подвергающейся ингибированию. Для достижения поставленных целей необходимо было разработать адекватную систему для детекции ингибирования теломеразы.

Поставленная задача была решена. Работа Д.М. Ажибека изложена на 142 страницах и построена по традиционному принципу - содержит введение, обзор литературы, результаты и обсуждение, материалы и методы, выводы и список цитируемой литературы, насчитывающий 173 наименования. Работа проиллюстрирована 40 рисунками, включает в себя 9 таблиц и 6 приложений. После

разделов «Обзор литературы» и «Результаты и обсуждение» имеет собственное заключение, которое очень информативно резюмирует соответствующую главу.

Обзор современной литературы демонстрирует уровень сложности материала, с которым столкнулся автор. Проведен анализ методов детекции и определения теломеразной активности. Показано современное представление о биогенезе теломеразы, представлены способы ингибирования ее активности и структуры таких ингибиторов. Автор утверждает, что существующие методы и подходы до сих пор не принесли успеха в виде одобренного FDA противоопухолевого препарата, который действует на теломеразу. Таким образом, обоснована актуальность и перспективность диссертационной работы. Необходимо отметить, что проведен обзор действительно современной литературы, более 50% источников «моложе» 10 лет, много работ 2013 и 2014 годов, и даже 2077 года (ссылка №8), что по всей видимости является опечаткой.

Первый этап исследований направлен на разработку метода детекции теломеразной активности. Автор использовал стандартный метод ТРАП с некоторыми собственными модификациями, основными из которых является разбавление продукта теломеразной реакции перед проведением количественного ПЦР в реальном времени. Для того, чтобы этот процесс был возможен автор использовал подход к увеличению экспрессии теломеразного комплекса в клетках. Для этого была использована система эписомальной экспрессии плазмид pBSK-DS-U1-hTR и p-DS-SFFV-hTERT в клетках линии HEK293E при добавлении вальпроевой кислоты.

Здесь необходимо сделать небольшое замечание, автор провел большое количество экспериментов по разработке и валидации метода оценки теломеразной активности, поэтому было бы очень хорошо привести краткое описание метода и проиллюстрировать его схемой. В этом случае стало бы легко оценить новизну и преимущества предложенного метода над существующими.

Разработав метод детекции активности теломеразы, автор приступил к реализации основной задачи своей работы, а именно дизайну ингибиторов теломеразы. В качестве таких объектов были исследованы химерные олигонуклеотиды в количестве 23 соединения. Для всех веществ приведены уровни теломеразной активности *in vitro* и *in vivo*.

Таким образом, в диссертации поставлена весьма перспективная прикладная задача – создание ингибиторов теломеразной активности. Задачу автор решил достойно.

Из недостатков работы, помимо отмеченных выше, можно упомянуть существенное количество опечаток и нарушений согласования в предложениях. Используется ряд неправильных терминов, например «транзитарная экспрессия», есть устоявшийся термин «транзиентная», иногда встречается «транзиторная». Небрежно выполнены иллюстрации, некоторые из них в откровенно низком качестве (рисунки 9, 12, 14, 23 и т.д.). Формулы веществ представлены в разных форматах качества. Весьма необычно выглядит заголовок «Рекомбинантная экспрессия теломеразы и вальпроевая кислота», такая формулировка скорее необходима для литературных произведений и не очень подходит для научных трудов.

В целом можно сказать, что работа посвящена очень сложной тематике и выполнена достойно. Получены новые данные, вносящие вклад в понимание механизмов регуляции теломераз. Выводы работы соответствуют результатам, автореферат и публикации отражают основное содержание диссертации. Диссертационная работа Ажибека Д.М. полностью соответствует требованиям к кандидатским диссертациям, изложенным в пунктах 9-14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» (№ 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор безусловно заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.



Смирнов И.В.

Старший научный сотрудник
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук (ИБХ РАН)

Москва 117997, ул. Миклухо-Маклая 16/10

Тел. (495)727-38-60

smirnov@mx.ibch.ru