

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
ИНСТИТУТА БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА
И Ю.А.ОВЧИННИКОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 24 июня 2015 г. № 11

О присуждении **Доронину Игорю Игоревичу**, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация “Противоопухолевые эффекты модифицированных фрагментов GD2-специфичных антител” по специальности 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите 15.04.2015 г., протокол №5 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук, 117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д.16/10 (действует на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г).

Соискатель Доронин Игорь Игоревич 1989 года рождения. В 2011 году соискатель окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова по специальности “биохимия”. В 2014 году соискатель окончил аспирантуру на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук. Работает младшим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в Группе липидных модуляторов иммунитета Отдела иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Холоденко Роман Васильевич, старший научный сотрудник Группы липидных модуляторов иммунитета Отдела иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова

Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Сащенко Лидия Павловна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммуногенетики рака Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук;

Лупатов Алексей Юрьевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной биологии отдела персонализированной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН), Москва, в своем положительном заключении, подписанном заведующим лабораторией клеточных основ развития злокачественных заболеваний, д.б.н., профессором Прасоловым Владимиром Сергеевичем, указала, что работа является законченным квалификационным исследованием и соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сам диссертант, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ, в том числе 19 работ по теме диссертации, из которых 6 работ общим объемом 8 печатных листов опубликовано в рецензируемых научных изданиях (5 работ - в российских научных журналах, входящих в перечень ВАК, и 1 - в зарубежном научном издании, входящем в базу данных Web of Science).

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной или существенный вклад:

1. Igor I. Doronin, Polina A. Vishnyakova, Irina V. Kholodenko, Eugene D. Ponomarev, Dmitry Y. Ryazantsev, Irina M. Molotkovskaya, Roman V. Kholodenko. Ganglioside GD2 in reception and transduction of cell death signal in tumor cells. BMC Cancer. 2014. 14 (1): 295.
2. Доронин И.И., Холоденко И.В., Молотковская И.М., Холоденко Р.В. Получение Fab-фрагментов GD2-специфичных антител и анализ их противоопухолевой активности in vitro. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 154, №11. С. 616-622.
3. Холоденко И.В., Доронин И.И., Вишнякова П.А., Болховитина Е.Л., Холоденко Р.В. Противоопухолевая активность GD2-специфичных антител и их Fab-фрагментов в мышинной модели рака. Иммунология. 2013. Т.34, № 4. С. 199-203.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Отзыв официального оппонента д.б.н. Сащенко Л.П. Отзыв положительный. Содержит следующие замечания: оппонент отмечает, что не приведены значения констант связывания с ганглиозидом GD2. Возникли вопросы: “как клетки одной популяции могут погибать под действием одного вещества одновременно по апоптозному и некрозному пути?”, “как неспецифические гидролазы специфически расщепляют молекулу антитела?”. Помимо этого высказано замечание о том, что для некоторых экспериментов в разделе “Материалы и методы” при оформлении диссертационной работы нежелательно давать ссылку на литературный источник, а также не ясны мотивы автора при выборе временных интервалов для оценки типа клеточной смерти.

Отзыв официального оппонента к.б.н. Лупатова А.Ю. Отзыв положительный. Отмечается, что в разделе «Заключение и выводы» фактически представлены только выводы. Они хорошо сформулированы, полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Однако помимо выводов в заключении хотелось бы узнать мнение автора о перспективах практического использования результатов его работы и, возможно, получить рекомендации на эту тему. Высказано пожелание о том, что хотелось бы увидеть результаты экспериментов по определению констант связывания полученных фрагментов антител, а также более глубокий анализ их противоопухолевой активности *in vivo*.

Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный. Содержит замечания относительно неточностей в подписях к рисункам, а также ряд замечаний по орфографии и использованию специфической терминологии.

Отзыв на автореферат Дмитриева Сергея Евгеньевича, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ. Отзыв положительный. К оформлению автореферата замечаний почти нет, кроме указания на мелкие недочёты.

Отзыв на автореферат Литвинова Ивана Сергеевича, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории инженерии белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук. Отзыв полностью положительный.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что

они известны своими исследованиями и достижениями в области молекулярной биологии и иммунологии. Это подтверждается наличием в данных областях большого количества публикаций в высокоцитируемых российских и зарубежных журналах. Их высокая квалификация позволяет объективно оценить научную и практическую ценность настоящей диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получена новая линия клеток гибридомы, продуцирующая GD2-специфичные антитела, характеризующиеся отсутствием кросс-реактивности с другими ганглиозидами.

Разработаны и получены различные GD2-связывающие фрагменты на основе нескольких типов GD2-специфичных антител. Созданы scFv-фрагменты антител 3F8, фрагменты антител 9P-L1, и Fab-фрагменты антител ME361. Изучены противоопухолевые эффекты.

Доказано, что в результате сайт-направленного пегилирования Fab-фрагментов анти-GD2-mAb получены модифицированные производные, сохранившие способность связывать ганглиозид GD2 и индуцировать гибель GD2-позитивных опухолевых клеток, а фрагменты GD2-специфичных антител обладают значимыми противоопухолевыми эффектами в мышинной сингенной модели рака. При этом сайт-направленное пегилирование фрагментов антител приводит к усилению противоопухолевых эффектов за счет увеличения времени циркуляции в организме.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что в настоящей работе проведен системный анализ цитотоксических эффектов GD2-специфичных антител, а также их производных на различных опухолевых клеточных линиях *in vitro* и в мышинной модели *in vivo*. Впервые показана прямая индукция клеточной гибели GD2-позитивных опухолевых клеток под действием фрагментов моноклональных антител. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих молекулярно-биологических и иммунологических экспериментальных методик.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что полученные данные открывают широкие практические перспективы использования фрагментов GD2-специфичных антител в качестве нового, предположительно низкотоксичного инструмента противоопухолевой терапии. Кроме того, полученные GD2-специфичные антитела могут стать основой для разработки высокочувствительных методов диагностики GD2-позитивных онкологических

заболеваний, а также эффективных иммунотерапевтических препаратов химерных / гуманизированных GD2-специфичных моноклональных антител.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что полученные Дорониным Игорем Игоревичем основные научные результаты обоснованы воспроизводимыми методами и соответствуют современным представлениям о противоопухолевой терапии. Используемые методики исследования и проведенные расчёты корректны. Достоверность полученных результатов обеспечена использованием в работе комплекса методических подходов: современных высокочувствительных молекулярно-биологических, биохимических и иммунологических методов исследования, тщательным учетом и подробной оценкой результатов с использованием адекватных методов статистической обработки данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании и выполнении экспериментов, глубоком анализе мировой литературы по теме исследования, а также подробном анализе полученных в результате работы данных; в участии в написании и подготовке к печати статей по теме исследования, а также в представлении полученных данных на российских и международных конференциях. Экспериментальные результаты получены лично автором, за исключением получения ганглиозидов GM1, GD1b, GD2, GD3, которые были любезно предоставлены к.х.н. И.И. Михалёвым (лаборатория липидов ИБХ РАН). Эксперименты, связанные с оптимизацией условий наращивания продуцентов scFv-фрагментов антител 3F8 проводилась совместно с к.б.н. Д.Ю. Рязанцевым (лаборатория молекулярной диагностики ИБХ РАН).

На заседании 24.06.2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Доронину Игорю Игоревичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 5 докторов наук (по специальности диссертации 03.01.03 - молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель
диссертационного совета



академик РАН Иванов В.Т.

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

24 июня 2015 года
Печать