

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,

созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 25 июня 2020 г. №21

О присуждении **Кондратьевой Лие Германовне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация **«Роль регуляторных мастер генов в развитии рака поджелудочной железы»** по специальности «03.01.03 – Молекулярная биология» принята к защите 25.03.2020, протокол №9 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10, действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель, Кондратьева Лия Германовна, 1992 года рождения, в 2014 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности «биохимия», в 2018 году окончила аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Работает младшим научным сотрудником в Лаборатории структуры и функций генов человека в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

Диссертация выполнена в Лаборатории структуры и функций генов человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель – кандидат химических наук **Чернов Игорь Павлович**, старший научный сотрудник Лаборатории структуры и функций генов человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты **Прасолов Владимир Сергеевич**, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточных основ развития злокачественных

заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, и **Соболев Александр Сергеевич**, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией молекулярной генетики внутриклеточного транспорта Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук, профессор биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», дали **положительные** отзывы на диссертацию.

Ведущая организация **Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации**, г. Москва в своем положительном заключении, подписанном **Кармаковой Татьяной Анатольевной**, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником отделения прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена, и утвержденном зам. генерального директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России чл.-корр. РАН Костиным Андреем Александровичем, указала, что диссертационная работа Кондратьевой Лии Германовны является квалифицированной научной работой высокого уровня и соответствует всем критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 №842), а сам диссертант заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология.

Соискатель имеет 10 статей по теме диссертации объемом 6,5 печ.л., опубликованных в рецензируемых научных изданиях из перечня, рекомендованного Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах в диссертации отсутствуют. Работы по теме диссертации, в которые Кондратьева Л.Г. внесла основной или значительный вклад:

1. **Л. Г. Кондратьева**, Т. В. Виноградова, И. П. Чернов, Е. Д. Свердлов. Мастер регуляторы транскрипции, определяющие судьбу клеточных линий в развитии, как возможные терапевтические мишени в онкологии // Генетика. 2015. Т. 51. № 11, с. 1221–1233
2. **Л. Г. Кондратьева**, А. А. Свешникова, Е. В. Гранкина, И. П. Чернов, М. Р. Копанцева, Е. П. Копанцев, Е. Д. Свердлов. Подавление экспрессии генов SOX9, FOXA2 и GATA4 в клетках рака поджелудочной железы при индукции эпителиально-мезенхимального перехода под действием TGFβ1 // Доклады Академии Наук. 2016. Т.469. № 2, с. 1–4
3. М. В. Зиновьева, М. Б. Костина, И. П. Чернов, **Л. Г. Кондратьева**, Е. Д. Свердлов. KLF5, новый игрок и новая мишень в постоянно меняющемся составе молекулярных двигателей рака

поджелудочной железы // Биоорганическая Химия. 2016. Т. 42. № 6, с. 668–674

4. **Л.Г. Кондратьева**, Д.А. Дидыч, И.П. Чернов, Е.П. Копанцев, Е.А. Стукачева, Т.В. Виноградова, Е.Д. Свердлов. Зависимость экспрессии мастер регуляторных генов эмбрионального развития в клетках рака поджелудочной железы от внутриклеточной концентрации мастер регулятора PDX1 // Доклады Академии Наук. 2017. Т. 475. № 2, с. 217–221

5. T. V. Vinogradova, I. P. Chernov, G. S. Monastyrskaya, **L. G. Kondratyeva**, E. D. Sverdlov. Cancer Stem Cells: Plasticity Works against Therapy. Acta Naturae. 2015, 7(4): 46–55.

6. **Л. Г. Кондратьева**, И. П. Чернов, М. В. Зиновьева, Е. П. Копанцев, Е. Д. Свердлов. Экспрессия генов мастер-регуляторов эмбрионального развития в опухолях поджелудочной железы // Доклады Академии Наук. 2017. Т. 475. № 1, с. 99–102

7. **Л.Г. Кондратьева**, К.Н. Кашкин, И.П. Чернов, Е.А. Стукачева, Д.А. Дидыч, Е.П. Копанцев, Е.Д. Свердлов. PCNA: конститутивный промотор человека для экспрессии генов в целях их функционального и генно-терапевтического использования. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2017. Т.35. №3, с. 89-92

8. **Л.Г. Кондратьева**, И.П. Чернов, М.В. Зиновьева, В.И. Егоров, Е.П. Копанцев, Е. Д. Свердлов. Гетерогенность экспрессии мастер-регулятора эмбрионального развития SOX9 у больших раком поджелудочной железы // Доклады Академии Наук. 2018. Т. 481. №4, с. 1–4.

9. М.В. Зиновьева, Л.Г. Николаев, **Л.Г. Кондратьева**, Т.В. Виноградова, Е.Д. Свердлов. Корреляция экспрессии генов транскрипционных факторов *KLF5* И *ZEB1* при раке поджелудочной железы // Доклады Академии Наук. 2018. Т. 481. № 5, с. 567-569

10. **L.G. Kondratyeva**, D.R. Safina, I.P.Chernov, E.P. Kopantzev, S.V. Kostrov, E.D. Sverdlov. PDX1, a key factor in pancreatic embryogenesis, can exhibit antimetastatic activity in pancreatic ductal adenocarcinoma. // Cancer Management and Research. 2019. Т. 11. с. 7077-7087.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. **Отзыв официального оппонента д.б.н. Прасолова В.С.** — положительный, содержит следующие замечания:

1) К сожалению, в тексте диссертации и автореферата встречаются опечатки, стилистические и грамматические ошибки.

2) В тексте диссертации встречаются некорректные выражения, такие как «эпителиальные/мезенхимальные гены» или «высокая/низкая стадия развития опухоли». Ясно, что автор имел в виду «генов эпителиальных/мезенхимальных маркеров или характеристик» и «высокая/низкая степень злокачественности» однако сформулировал не совсем корректно.

3) В разделе «Заключение» диссертации приводится фраза следующего содержания: «В ходе исследования экспрессии мастер генов развития поджелудочной железы в опухолевых образцах нами было сделано наблюдение, что в более чем половине исследованных образцов рака ПЖ, наблюдается пониженное содержание ключевого мастер регулятора развития ПЖ – PDX1». В диссертационной работе проводилось исследование только экспрессии гена *PDX1* в опухолевых образцах, содержание белкового продукта гена PDX1 не было оценено, поэтому использовать такую формулировку ошибочно.

4) Не вполне ясна логика расположения образцов на Рис. 8А: на графиках с

индивидуальной экспрессией исследованных мастер генов опухолевые образцы расположены по возрастанию уровня экспрессии гена SOX9, но в части рисунка Б порядок образцов соответствует увеличению экспрессии гена PDX1. Не вполне ясно изменение приведённого на Рис. 8А порядка образцов. Данный момент требует разъяснений.

5) В разделе с результатами моделирования процесса эпителиально-мезенхимального перехода и исследования поведения выбранных мастер генов во время этого процесса, при переходе к мезенхимальному фенотипу показано снижение экспрессии генов *SOX9*, *GATA4*, *FOXA2*. Не связано ли это с тем, что данные гены характерны именно для эпителиальных, а не мезенхимальных клеток, и эти изменения не являются следствием эпителиально-мезенхимального перехода?

2. Отзыв официального оппонента д.б.н. Соболева А.С. — положительный, содержит следующие замечания:

1) Нет четкого обоснования выбора именно тех мастер-генов, которые Л.Г. Кондратьева исследовала. В диссертации есть фраза (стр.21): «Среди таких потенциальных мастер генов, deregulированных у человека, мы выделили потенциальные мастер регуляторные гены *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *GATA4* и *HNFB1b*»; в автореферате — аналогичная фраза (стр. 4): «Среди них мы выделили потенциальные мастер регуляторные гены *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *GATA4* и *HNFB1b*, активность которых имеет ключевое значение для развития поджелудочной железы и дисрегуляция которых играет принципиально важную роль при канцерогенезе ПЖ». Почему именно их? Каковы мотивы именно такого выбора?

2) Некоторые приведенные методики описаны недостаточно подробно, например, остается неясной, а потому, возможно, трудновоспроизводимой методика проведения пролиферативного теста и анализов, выполненных с помощью проточной цитофлуориметрии.

3) Автор объясняет отсутствие эффекта рекапитуляции мастер-генов, заложенного в изначальную гипотезу диссертации, в том числе обильным стромальным компонентом опухолей ПЖ. Предпринимались ли попытки каким-либо образом оценить его наличие и долю в исследованных образцах?

3. Отзыв ведущей организации — положительный, принципиальных замечаний не содержит, обращает внимание соискателя на следующие моменты:

1) В автореферате диссертации присутствуют немногочисленные опечатки и стилистические неточности (как, например, «клетки предшественники поджелудочной железы»).

2) Разделы автореферата, отражающие новизну и практическую значимость, содержат, на наш взгляд, избыточную информацию, детализирующую методики и полученные результаты.

4. Отзыв на автореферат к.х.н. Данилковича Алексея Викторовича – н.с.

лаборатории фармакологической кинетики, ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ФИБХ РАН). Отзыв положительный, замечаний не содержит.

5. Отзыв на автореферат **к.б.н. Ратушного Андрея Юрьевича** – н.с. лаборатории клеточной физиологии ФГБУН ГНЦ РФ – Института медико-биологических проблем РАН. Отзыв положительный, замечаний не содержит

6. Отзыв на автореферат **к.б.н. Ковиной Анастасии Павловны** – н.с. лаборатории структурно-функциональной организации хромосом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук. Отзыв положительный, замечаний не содержит

Выбор официальных оппонентов, а также представителей ведущей организации обоснован наличием у них значительного опыта исследовательской работы в областях, близких к тематике диссертационной работы, включающих изучение основ развития злокачественных заболеваний, путей сигнальной трансдукции, доставки генов для целей терапии рака и адресных методов лечения онкологических заболеваний. Научные достижения официальных оппонентов и представителей ведущей организации подтверждаются публикациями в ведущих российских и международных научных изданиях. Таким образом, высокая квалификация и большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что автором проведено разностороннее исследование роли ключевых генов эмбриональных регуляторов поджелудочной железы *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *GATA4* и *HNF1b* при развитии аденокарциномы поджелудочной железы. Определены уровни их экспрессии в опухолевых, нормальных и фетальных образцах поджелудочной железы человека. Впервые показана корреляция экспрессии генов *PDX1* и *SOX9*, а также *PDX1* и *GATA4* в образцах рака поджелудочной железы. Смоделирован процесс эпителиально-мезенхимального перехода в клетках рака поджелудочной железы, показано изменение экспрессии нескольких генов эмбриональных регуляторов поджелудочной железы. Исследовано влияние экспериментально повышенной экспрессии одного из мастер генов поджелудочной железы – *PDX1* на злокачественный потенциал раковых клеток: обнаружены изменения экспрессии генов маркеров эпителиально-мезенхимального перехода и эмбриональных транскрипционных факторов, показано увеличение скорости роста раковых клеток и впервые продемонстрировано снижение миграционной активности клеток рака поджелудочной железы.

Теоретическая значимость исследования состоит в том, что в работе впервые получены результаты по экспрессии генов в фетальной поджелудочной железе человека,

при том, что основные известные из литературы данные получены для мыши и на мышинных эмбрионах. Получение таких данных для организма человека является новой ценной фундаментальной информацией, которая позволит глубже изучить процесс эмбриогенеза поджелудочной железы человека. Сопоставление уровней экспрессии генов *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *GATA4* и *HNF1b* в опухолевых, нормальных и фетальных образцах поджелудочной железы человека привело к выводу о том, что для протоковой аденокарциномы поджелудочной железы не наблюдается ожидаемой рекапитуляции экспрессии данных эмбриональных генов в опухолях в отличие от обнаруженной ранее рекапитуляции эмбриональных генов при раке легкого и пищевода.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что выявленная сильная неоднородность в уровнях экспрессии генов *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *GATA4* и *HNF1b* делает невозможным их использование в роли диагностических маркеров. Практически важным результатом работы является выявление способности фактора PDX1 снижать миграционную способность раковых клеток как в тестах *in vitro*, так и на экспериментальных животных. Это позволяет предположить, что PDX1 имеет потенциал для использования в качестве ингибитора метастатических свойств раковых клеток.

Оценка результатов исследования выявила, что достоверность экспериментальных данных сомнений не вызывает, поскольку они получены с использованием сертифицированного оборудования, показана воспроизводимость результатов в различных условиях. Полученные данные не противоречат друг другу.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии и планировании экспериментов, их выполнении и анализе полученных результатов. Все основные экспериментальные данные получены автором лично, за исключением следующих: экспериментальные данные по определению миграционной активности клеток рака поджелудочной железы в экспериментах *in vivo* на организменной модели *Danio rerio* получены сотрудниками лаборатории белковой инженерии Института молекулярной генетики РАН. Автор лично представляла результаты работы на международных конференциях и принимала активное участие в написании и подготовке к публикации научных статей.

Таким образом, диссертационный совет заключает, что диссертация Кондратьевой Л.Г. является законченной научно-квалификационной работой, имеющей важное значение для развития молекулярно-генетических исследований в области онкологии. Работа написана автором самостоятельно и содержит новые и актуальные научные результаты. Диссертационная работа Кондратьевой Лии Германовны «Роль регуляторных мастер генов в развитии рака поджелудочной железы», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология, соответствует всем требованиям (в том числе п.9),

предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено положением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650).

На заседании 25 июня 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Кондратьевой Лие Германовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 6 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации — 03.01.03, молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 19, против - 0, недействительных бюллетеней - 2.

Председатель
диссертационного совета


д.х.н., академик РАН Иванов В.Т.

Ученый секретарь
диссертационного совета


д.ф.-м.н. Олейников В.А.

25 июня 2020 г.

