

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ

**ИНСТИТУТ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КЛЕТОЧНОЙ
БИОЛОГИИ**

СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИМКБ СО РАН)

пр. Академика Лаврентьева, д. 8/2, Новосибирск, 630090

телефон (383) 3639042, факс (383) 3639078

e-mail: info@mcb.nsc.ru

<http://www.mcb.nsc.ru>

ОКПО 30781167, ОГРН 1115476157070,

ИНН / КПП 5408291757 / 540801001

№ 15318-05-2171

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального
государственного учреждения науки
Институт молекулярной и клеточной
биологии Сибирского отделения

Российской академии наук

д.б.н. Демаков С.А.



20 ноября 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук на диссертационную работу Риттера Генриха Сергеевича «Изучение клеточных и молекулярных механизмов радиопротекторного действия двуцепочечной РНК *Saccharomyces cerevisiae*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22.- Клеточная биология

Актуальность темы исследования.

Ионизирующее излучение, действуя на живой организм, вызывает в нем изменения, которые приводят к повреждению функциональных систем и к его гибели. В настоящее время считается, что ионизирующее излучение оказывает наиболее губительное воздействие на мембранные структуры и ядро клетки. Повреждения хромосом, включающие и наиболее фатальные двуцепочечные разрывы ДНК, ведут к гибели клетки. Поскольку ДНК является ключевой мишенью ионизирующего излучения,

повреждения которой влияют на жизнеспособность и пролиферативную активность, поиск новых радиопротекторных агентов, способных восстанавливать поврежденные структуры ДНК, и их изучение являются актуальной проблемой клеточной биологии. Диссертация Генриха Сергеевича Риттера посвящена изучению клеточных и молекулярных механизмов действия нового радиопротектора, представляющего собой двуцепочечную РНК пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. В работе показано, что препарат двуцепочечной РНК дрожжей при внутривенном введении экспериментальным мышам, достигает внутренних компартментов гемопоэтических стволовых клеток в недеградированной форме, и, в случае последующего облучения животного летальной дозой радиации, способствует сохранению жизнеспособности этих клеток. Происходит индукция пролиферации гемопоэтических стволовых клеток, выход их в кровоток и стимуляция образования зародышевых центров в селезенке, обеспечивающих обеспечивающие быстрое восстановление популяции клеток иммунной и кроветворной систем системы и сохранение жизнеспособности облученного организма. В связи с вышесказанным, представленная работа несомненно является актуальным и востребованным научным исследованием.

Научная новизна и практическая значимость

В диссертационной работе впервые охарактеризован новый радиопротектор – препарат двуцепочечной РНК, полученный из суммарной РНК пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Полученные результаты позволили определить клетки-мишени для защитного действия этого препарата, показать, что низкодифференцированные стволовые клетки различного генеза способны интернализировать двуцепочечную РНК с помощью эндоцитоза. Автором была предложена модель механизма радиопротекторного действия нового препарата, характеризующегося успешным пострадиационным восстановлением стволовых гемопоэтических предшественников за счет участия в репаративном процессе фрагментов экстраклеточной двуцепочечной нуклеиновой кислоты, экспериментально подтверждены основные положения этой модели. Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты способствуют лучшему пониманию роли нуклеиновых кислот в биологических механизмах, определяющих существование клетки.

Представленная Генрихом Сергеевичем Риттером работа, связанная с поиском и изучением новых эффективных нетоксичных радиопротекторов, в условиях широкого использования ионизирующего излучения во многих сферах деятельности человека имеет

высокую практическую значимость и может быть использована для дальнейших экспериментальных и клинических исследований.

Структура и содержание работы.

Диссертационная работа имеет классическую структуру и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов. В конце приведен список цитируемой литературы, содержащий 176 ссылок. Работа изложена на 128 страницах, содержит 46 рисунков и 6 таблиц.

В разделе «**Введение**» автором убедительно обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель, задачи исследования и основные положения, выносимые на защиту; охарактеризована научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования. В главе 1 «**Обзор литературы**» представлен анализ современной литературы по теме диссертации. Первый раздел обзора посвящен описанию механизмов и принципов радиопротекторного действия. Во втором разделе изложены общие представления о репарации двуцепочечных разрывов, особое внимание уделено механизмам репаративного процесса негомологичного объединения концов, характерном для репарации двуцепочечных разрывов, вызываемых γ -радиацией. Следующие разделы посвящены механизмам интернализации экстраклеточных двуцепочечных нуклеиновых кислот в эукариотическую клетку. В завершающем разделе обзора литературы приводятся данные, полученные в лаборатории индуцированных клеточных процессов ИЦиГ СО РАН, о взаимодействии экстраклеточной двуцепочечной ДНК с низкодифференцированными клетками различного происхождения.

В главе 2 достаточно полно описаны **материалы и методы**, используемые в работе. Автор представляет широкий спектр методов, которыми он владеет: от молекулярно-генетических, иммуноцитохимических, цитофлюорометрических методов, до методов работы с экспериментальными животными, что свидетельствует о высокой квалификации и хорошей методической подготовке Генриха Сергеевича.

Глава 3 «**Результаты**» состоит из четырех разделов, в которых четко и логично описан процесс исследования и полученные результаты. Первая часть главы посвящена исследованиям, направленным на поиск и характеризацию активной субстанции препарата суммарной РНК дрожжей, определяющей радиопротекторные свойства. По результатам экспериментов, представленных в этой части автор делает вывод о том, что радиозащитные свойства препарата определяются двуцепочечной формой молекул РНК, присутствующей в виде обособленной фракции в препарате суммарной РНК пекарских

дрожжей *S. cerevisiae*. Автором убедительно показано, что γ -облучение летальной дозой мышей с предварительным внутрибрюшинным введением этой фракции двуцепочечной РНК не приводит к гибели животных, выживаемость может достигать 100%.

В экспериментах, представленных во второй части представлены результаты, на основании которых автор делает вывод о том, что основной мишенью радиопротекторного действия препарата двуцепочечной РНК являются гемопоэтические стволовые клетки. В третьей, прекрасно иллюстрированной, части Генрих Сергеевич описывает результаты экспериментов, доказывающих интернализацию флуоресцентно-меченого двуцепочечного РНК-зонда в низкокодифференцированные опухолевые клетки. В последней части главы представлены результаты, на основании которых предложен молекулярный механизм действия препарата двуцепочечной РНК, основанный на участии этого препарата в репарационных процессах. Кроме того, автор представил результаты экспериментов по сравнению эффективности радиозащитного действия штатного радиопротектора Б-190 и исследуемого в работе препарата РНК. В эксперименте по облучению животных, которым предварительно вводили сравниваемые радиопротекторные агенты, показано, что препарат суммарной РНК обладает ярко выраженным радиопротекторным действием, не уступающим по эффективности штатному препарату Б-190.

В главе **Обсуждение** Генрих Сергеевич анализирует полученные результаты в контексте известных к настоящему времени литературных данных о радиопротекторном действии нуклеиновых кислот, формулирует и обсуждает модель механизма радиопротекторного действия препарата двуцепочечной РНК. В главе **Выводы:** автор четко формулирует выводы исследования, которые соответствуют поставленным целям и задачам и согласуются с результатами, полученными в процессе выполнения диссертационной работы.

В целом, диссертационная работа производит впечатление законченного самостоятельного исследования. Материал диссертации изложен четким научным языком, рукопись хорошо оформлена, представленные в диссертации результаты хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками.

При рассмотрении диссертационной работы возникли следующие **вопросы и замечания:**

- В экспериментах по изучению интернализации FAM-меченого РНК зонда в качестве клеточной модели использовали низкодифференцированные клетки аденокарциномы Кребс-2, полученные из перевиваемых асцитных опухолей, культивируемых на мышах линии СВА. Есть ли у автора данные о возможности культивирования этих клеток *in vitro*? Культивирование *in vitro* позволило бы стандартизировать процесс наработки клеток для экспериментов, а также проводить эксперименты по облучению клеток Кребс-2, обработанных радиозащитными препаратами, непосредственно в культуре.

- При сравнении эффективности радиопротекторного действия препарата двуцепочечной НК и штатного радиопротектора Б-190 в работе показано, что препарат РНК не уступает по эффективности и даже превосходит уже применяющийся агент Б-190. Возможно, стоило бы в рамках этой работы оценить комбинированное действие этих двух препаратов, оценить, приводит ли такая комбинация к более эффективной защите.

- В разделе «Экспериментальные животные» главы «Материалы и методы», сказано, что в работе использовали мышей трех линий - СС57BR, С57BL/6 и СВА. В первой части главы «Результаты» в описании экспериментов указано, животные какой линии в этих экспериментах использовались. Однако во второй и четвертой частях главы такое указание отсутствует. Стоило бы и в этих главах отметить, мыши каких линий использовались в экспериментах.

- Не все названия расшифрованы и присутствуют в списке сокращений, например, на рис.21В и в таблице 4 обозначения гемопоэтических клеток приведены только в сокращенном виде (BFU-E, CFU-GM, CFU-GEMM) и отсутствуют в списке сокращений.

Оценивая диссертационную работу Риттера, необходимо отметить, что отмеченные выше замечания не снижают научную и практическую значимость работы. Диссертационная работа достаточно апробирована, ее содержание адекватно отражено в автореферате, результаты опубликованы, в том числе в пяти статьях, опубликованных в рецензируемых международных и российских журналах

Заключение о соответствии диссертационной работы предъявляемым требованиям.

Диссертационная работа Генриха Сергеевича Риттера «Изучение клеточных и молекулярных механизмов радиопротекторного действия двуцепочечной РНК *Saccharomyces cerevisiae*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22.- клеточная биология, является законченным научно-квалификационным исследованием и представляет интерес для современной

науки и медицины. Работа соответствует квалификационным критериям п.9 «Положения о присуждении ученых степени, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842.

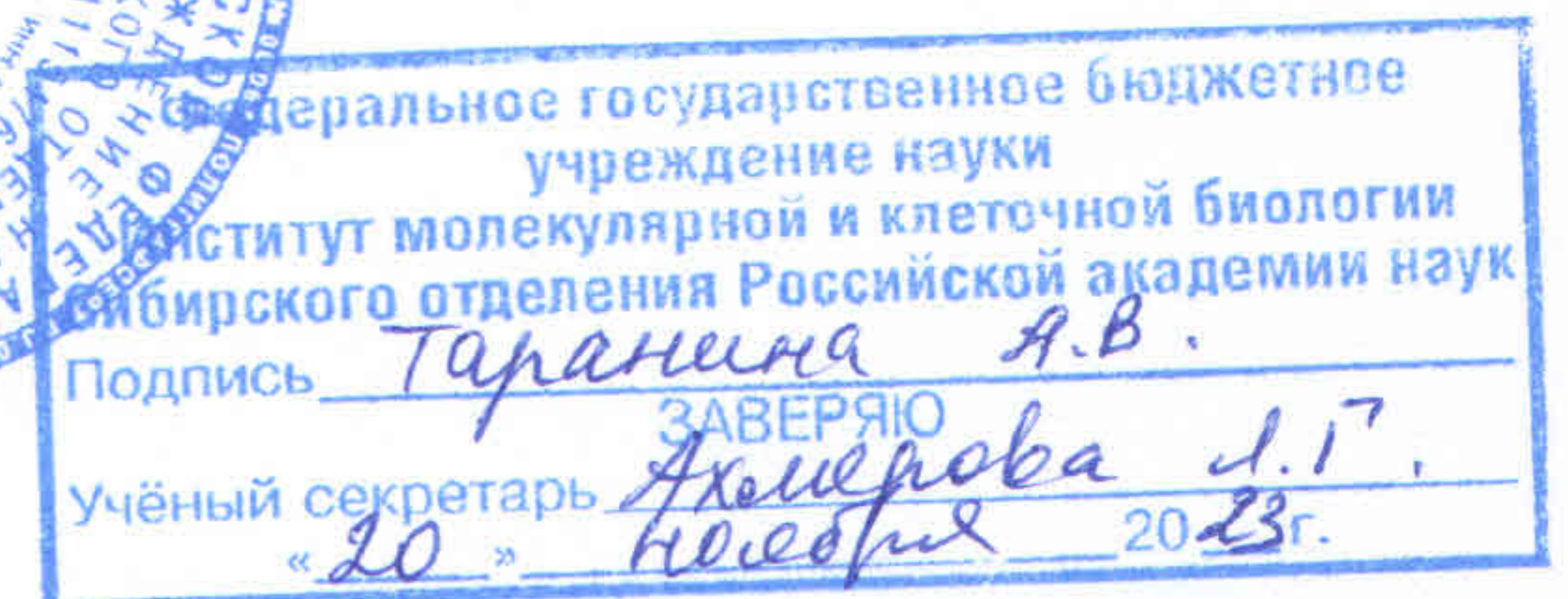
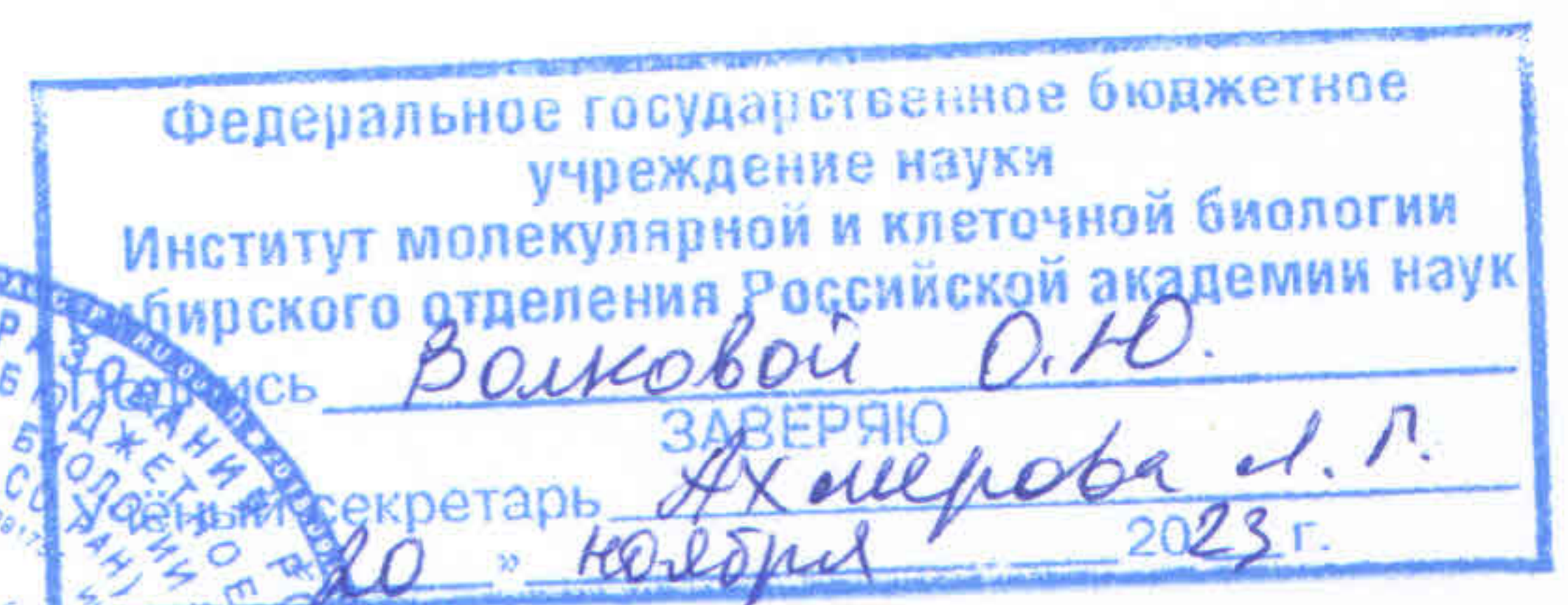
Автор диссертации, Риттер Генрих Сергеевич, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22.- клеточная биология.

Отзыв на диссертационную работу обсужден и утвержден на семинаре Отдела молекулярной иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук ИМКБ СО РАН 15 ноября 2023 года, протокол № 05.

20 ноября 2023 г.

Старший научный сотрудник
лаборатории иммуногенетики ИМКБ СО РАН
к.б.н., Волкова Ольга Юрьевна

Зав. отделом молекулярной иммунологии
ИМКБ СО РАН,
д.б.н., Таранин Александр Владимирович



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (ИМКБ СО РАН)
630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8/2
Тел.: +7 (383) 363-90-42 Веб-сайт – www.mcb.nsc.ru
E-mail: info@mcb.nsc.ru, volkova@mcb.nsc.ru