

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Вавилова Никиты Эдуардовича «ДЕТЕКЦИЯ НИЗКОПРЕДСТАВЛЕННЫХ БЕЛКОВ 18 ХРОМОСОМЫ МЕТОДАМИ ТАРГЕТНОЙ ПРОТЕОМИКИ, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. - «Биохимия»

Аналитические возможности масс спектрометрической детекции молекул чрезвычайно широки. Данный метод используется для детекции белков, нуклеиновых кислот, метаболитов и используется во многих областях науки и индустрии. При исследовании простых белковых смесей, которые содержат единичные белки масс спектрометрический анализ позволяет белки в концентрации до 10^{-18} М. Однако при исследовании комплексных биологических образцов чувствительность метода значительно снижается. Чаще всего наиболее низкая концентрация регистрируемых соединений в таких биологических образцах как сыворотка крови человека и клеточные линии составляет 10^{-12} М. При исследовании биологического материала важно зарегистрировать как можно больше белков, чтобы наиболее точно охарактеризовать биологическую систему. Именно выяснению причин ограничения чувствительности современных протеомных методов при исследовании комплексных биологических образцов и разработке методики, которая позволила бы преодолеть эти ограничения, и посвящена данная работа.

Для решения поставленных задачи по исследованию влияния факторов, лимитирующих детекцию белков авторы использовали как классические таргетные методы масс спектрометрического анализа с использованием одномерного фракционирования, а также методы с использованием двух последовательных фракционирований с разным рН среды. На примере упрощенной белковой системы UPS1, которая состоит из 47 высокоочищенных белков человека, были выявлены факторы, ограничивающие чувствительность метода. В работе показано, что при использовании таргетного метода анализа основными лимитирующими факторами являются концентрация белка, наличие комплексной биологической матрицы в виде белков с широким концентрационным диапазоном и выбор пептида для мониторинга белка при планировании

таргетного анализа. В дальнейшем для преодоления вышеописанных ограничений был использован метод двумерного фракционирования, который позволил увеличить число зарегистрированных целевых белков UPS1 в таргетном анализе. На следующем этапе авторы разработали и применили методику двумерного таргетного анализа на биологическом образце – клеточной линии гепатоцеллюлярной карциномы HepG2. Также было показано, что с помощью методики двумерного таргетного анализа можно обнаружить белки, соответствующие транскрипты которых не регистрируются при транскриптомном анализе. В дальнейшем было проведено сравнение стабильности и воспроизводимости измерений классических одномерных методов анализа с двумерным анализом, как таргетным, так и панорамным на примере образцов нормальной печени человека. Показано, что показатели стабильности и воспроизводимости измерений двумерного анализа и одномерного находятся на одном уровне. Применяемые методы адекватно соответствуют поставленной цели работы и соответствующим задачам.

Научная новизна работы состоит в разработке и успешном применении методики двумерного таргетного анализа, которая по сравнению с одномерным методом анализа позволяет зарегистрировать больше низкокопийных белков, кодируемых генами 18 хромосомы человека. Было показано, что с помощью методики в каждом образце печени удалось зарегистрировать 69 белков, кодируемых генами 18 хромосомы человека, в том числе 17 белков в концентрации менее 1000 копий на клетку. При этом белки, обнаруживаемые только при помощи таргетного метода двумерного фракционирования, имеют высокую биологическую значимость. Так, например, среди белков, зарегистрированных в ультранизкой концентрации, оказался P10415 (регулятор апоптоза Bcl-2).

Объем выполненных исследований адекватен и соответствует аттестационной работе кандидатского уровня. Автореферат написан грамотно, на хорошем языке, отмечается уместное использование специальной терминологии. Однако в тексте изредка встречаются опечатки. Данные, полученные в результате выполнения этой работы, были опубликованы в 4 рецензируемых журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ, и доложены на 2-ух крупных международных конференциях.

Возможно, в такой работе стоило также использовать ортогональный метод регистрации белков и подтвердить наличие низкокопийных белков или белков, соответствующие транскрипты которых не регистрируются с помощью транскриптомного анализа, с помощью иммунохимических методов. Однако это возможно в дальнейших исследованиях.

Выводы диссертации хорошо сформулированы и обоснованы, вытекают из представленных результатов исследований.

Таким образом, можно заключить, что работа Вавилова Никиты Эдуардовича соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в редакции от 01 октября 2018 г. № 1168 с изменениями от 20 марта 2021 года №426, от 11 сентября 2021 г. №1539 и от 26 сентября 2022 г. №1690). Уровень и качество исследований, представленных в автореферате Вавилова Н.Э., показывают, что автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

Доктор биологических наук,
профессор, главный научный сотрудник
лаборатории клеточных взаимодействий
ИБХ РАН

«18» сентября 2023 г.



Сапожников Александр Михайлович

117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) www.ibch.ru Телефон: +7 (495) 335-01-00. Факс: +7 (495) 335-08-12. Адрес электронной почты: amsap@mail.ru

Подпись Сапожникова А.М. заверяю
Доктор физико-математических наук,
Ученый секретарь ИБХ РАН

Олейников Владимир Александрович

