

**Заключение диссертационного совета 24.1.172.01, созданного на базе  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени  
В.Н. Ореховича», по диссертации на соискание ученой степени  
кандидата наук**

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 13 февраля 2025 г. № 2

О присуждении Зориной Елене Сергеевне, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Протеоформное профилирование ткани печени человека в норме и при гепатоцеллюлярном раке с использованием двумерного геле-электрофореза и масс-спектрометрии» по специальности 1.5.4. Биохимия принята к защите 28 ноября 2024, протокол № 9, диссертационным советом 24.1.172.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, созданного Приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г. с внесением изменений Приказом Минобрнауки России № № 561/нк от 03 июня 2021 г. и Приказом Минобрнауки России № 1959/нк от 12 октября 2023 г.

Соискатель Зорина Елена Сергеевна, 1991 года рождения.

В 2013 году соискатель окончила Донецкий национальный университет Министерства образования и науки, молодежи и спорта Украины, Химический факультет, по специальности биохимия. Работает младшим научным сотрудником в лаборатории анализа постгеномных данных ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Диссертация выполнена в лаборатории анализа

постгеномных данных ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Нарыжный Станислав Николаевич, руководитель группы протеомики Отделения молекулярной и радиационной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения (ФГБУ) «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Официальные оппоненты:

Ковалев Леонид Иванович, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное учреждение (ФГУ) «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», ведущий научный сотрудник лаборатории структурной биохимии белка;

Буздин Антон Александрович, доктор биологических наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки (ФГБУН) Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, ведущий научный сотрудник группы геномного анализа сигнальных систем клетки;

ведущая организация – ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», гор. Москва, в своём положительном заключении, подписанном кандидатом биологических наук, заведующим лабораторией протеомного анализа Горбачевым Алексеем Юрьевичем, указала некоторые замечания и поставила ряд вопросов. Так, в качестве замечаний отмечается ограниченная выборка пациентов, что может быть недостаточным для получения статистически значимых выводов; отсутствие экспериментов *in vitro* или *in vivo* для подтверждения роли выявленных биомаркеров в патогенезе гепатоцеллюлярного рака (ГЦР);



недостаточное обсуждение значимости посттрансляционных модификаций; отсутствие сравнения протеоформных профилей при ГЦР с другими видами рака. Вопросы касались, в частности, методических аспектов, статистической обработки данных, различия протеоформных профилей в зависимости от этиологии ГЦР. Однако отмеченные замечания и вопросы не умаляют значимости проведенного исследования, но вместе с тем указывают на возможные направления дальнейшего развития работы.

Соискатель имеет 35 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 15 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 5.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Naryzhny S. Ronzhina N., Zorina E., Kabachenko F., Klopov N., Zgoda V. Construction of 2DE Patterns of Plasma Proteins: Aspect of Potential Tumor Markers // Int. J. Mol. Sci. – 2022 – Т. 23 – №. 19 – С. 11113. Scopus, WoS, IF= 5.6, K1, 2.01 условных печатных листа.

В публикации описано исследование белков плазмы крови человека с использованием двумерного гель-электрофореза с последующим масс-спектрометрическим анализом и иммунодетекцией с целью идентификации потенциальных опухолевых биомаркеров. Представлены профили протеоформ (2DE-паттерны) белков плазмы в норме и оценены их уровни содержания по отношению к уровням «классических белков плазмы». Соискатель принимала непосредственное участие в планировании экспериментов, подготовке образцов к протеомному анализу, подготовке публикации.

2. Naryzhny S., Klopov N., Ronzhina N., Zorina E., Zgoda V., Kleyst O., Belyakova N., Legina O. A database for inventory of proteoform profiles: «2DE-pattern» // Electrophoresis. – 2020 – Т. 41 – №. 10 – С. 1 – 7. Scopus, WoS, IF=3, K1, 0.81 условных печатных листа.

В публикации описано создание базы данных протеоформ, основанной на информации, полученной путем разделения протеоформ с использованием



двумерного гель-электрофореза с последующим масс-спектрометрическим анализом. Описаны принципы создания и структура базы данных. Соискатель принимала непосредственное участие в получении первичных данных, их обработке и анализе, подготовке публикации.

3. Naryzhny S., Zgoda V., Kopylov A., Zorina E., Kleist O., Archakov A. Next Steps on In-Silico 2DE Analyses of Chromosome 18 Proteoforms // *Journal of Proteome Research*. – 2018 – Т. 17 – №. 12 – С. 4085 – 4096. Scopus, WoS, IF= 3,8, K1, 1,27 условных печатных листа.

В публикации описаны результаты протеомного профилирования различных типов образцов (клеточная линия HepG2, глиобластома, клеточная линия ЛЭЧ, нормальная ткань печени и плазма человека). По результатам исследования получена достоверная информация о протеоформах 117 изоформ, кодируемых 104 генами хромосомы 18. Были созданы 3D-графики, показывающие распределение различных протеоформ из одного и того же гена на двумерной электрофореграмме. Соискатель принимала участие в планировании экспериментов, подготовке образцов к протеомному анализу, подготовке публикации.

4. Naryzhny S., Zgoda V., Kopylov A., Petrenko (Zorina) E., Kleist O., Archakov A. Variety and dynamics of proteoforms in the human proteome: aspects of markers for hepatocellular carcinoma // *Proteomes*. – 2017 – Т. 5 – №. 4 – С. 33. Scopus, IF= 4.0, K1, 1.39 условных печатных листа.

В публикации описаны результаты протеомного анализа белков и их протеоформ из нормальных (печеночных) и раковых (HepG2) клеток. В результате обнаружено ~ 20 000 протеоформ, кодируемых более, чем 4000 генами. Был создан набор 3D-графиков, показывающих распределение этих протеоформ на двумерных электрофореграммах (профилях). Сравнительный анализ этих профилей у нормальных и раковых клеток показал высокую изменчивость и динамику многих белков. Более подробная информация о профилях может быть использована для создания панелей более специфичных биомаркеров. Соискатель принимала участие в планировании



экспериментов, подготовке образцов к протеомному анализу, подготовке публикации.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

официального оппонента Ковалева Леонида Ивановича, доктора биологических наук, доцента, ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», ведущего научного сотрудника лаборатории структурной биохимии белка, в котором есть замечания по оформлению работы и вопросы. Указывается на наличие в автореферате некоторых некорректных формулировок при описании образцов тканей, хотя в тексте самой диссертации всё сформулировано верно; отмечается, что описание образцов ткани пациента с ГЦР (стр. 79) не отражено в материалах и методах; спрашивается, чем может быть вызвано увеличение детектируемых белков в злокачественной ткани по сравнению с контролем. Все отмеченные недостатки не касаются смысловой части работы и не влияют на общую высокую оценку выполненного диссертационного исследования;

официального оппонента Буздина Антона Александровича, доктора биологических наук, профессора РАН ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, ведущего научного сотрудника группы геномного анализа сигнальных систем клетки, в котором есть некоторые замечания и рекомендации, вопросы рекомендательного и технического характера, комментарии и предположения. Так, в качестве замечаний и рекомендаций отмечается, что для обоснования ценности гена *CCNBI* как мишени микроРНК-144 требуются более строгие доказательства; автору следовало более осторожно или наоборот точно применять формулировки некоторых утверждений (стр.62 и 64); более подробно описать результаты упомянутой работы Киселевой О.И. по транскриптомно-протеомному профилированию; указано также на неясность



некоторых фраз (стр.65-67). Поставленные вопросы касаются, в частности, интерпретации результатов получения разных протеоформ одних и тех же белков из соседних секций геля при двумерном гель-электрофорезе; экстракции белков из клеток НерG2 в логарифмической фазе роста. Тем не менее, замечания, комментарии и поставленные вопросы не влияют на общую высокую оценку и не умаляют значимость данной работы.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, заведующего отделом функциональной геномики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» Скоблова Михаила Юрьевича есть вопросы, требующие уточнения. Спрашивается, была ли информация о белках, обнаруженных в базе данных «Протеом плазмы человека», получена на основе экспериментальных данных или путем биоинформатических предсказаний; была ли проведена проверка гипотезы о возможном влиянии вирусов гепатита В и С в тканях пациента на количество идентифицированных белков в контрольной и нормальной ткани методом масс-спектрометрического анализа? Однако эти замечания не уменьшают ценности выполненной работы.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории простых систем Федерального бюджетного учреждения науки «Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины» Роспотребнадзора Матюшкиной Дарьи Сергеевны есть замечания и вопросы. Основным недостатком является малая выборка исследуемых образцов (как нормальных, так и контрольных). Также отмечается неточность информации о контрольных группах исследованных тканей (рис.1), недостаточность разбора наблюдаемых отличий в модификациях белков в исследуемых группах. Спрашивается, по какому минимальному количеству пептидов проводилась идентификация белков; с чем связано низкое количество идентифицированных белков панорамным способом? Однако, несмотря на сделанные замечания, работа является законченным интересным исследованием, выполненном на высоком



методическом уровне. Вопросы и комментарии к работе не влияют на её общую высокую оценку и не умаляют значимость работы.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории нейрехимии ФГБУН Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук Бугровой Анны Евгеньевны есть вопросы и замечания, в частности: 1) в каких случаях подход с двумерным электрофорезом и секционным профилированием может оказаться более полезным, чем панорамное профилирование; 2) как объяснить, что белки, идентифицируемые при панорамном профилировании, не видны при глубоком секционном; 3) как объяснить разницу в количестве идентификаций между образцами «нормальной» и «контрольной» ткани печени и связь с заражением вирусами гепатита В и С образцов от пациента с ГЦР; с какой целью при биоинформатическом анализе использовали такое большое количество модификаций? Отмечается также, что было бы полезным провести независимую валидацию обнаруженных протеоформ с использованием альтернативных методов, таких как иммуноблоттинг и иммуноферментный анализ.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что доктор биологических наук Ковалев Леонид Иванович – известный специалист в области протеомных исследований и протеомной идентификации белков; доктор биологических наук Буздин Антон Александрович – авторитетный специалист в области экспериментальной и клинической онкологии, в послужном списке которого немало высокоцитируемых работ по геномике, транскриптомике и протеомике рака.

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства» - один из ведущих научных центров, занимающийся фундаментальными и прикладными разработками в области

исследований, имеющих самое непосредственное отношение к проблематике рассматриваемой диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- впервые разработан и применен оригинальный подход секционного протеомного анализа, основанный на использовании двумерного гелевого электрофореза с последующей идентификацией протеоформ методом панорамной масс-спектрометрии;
- впервые выявлены специфические белковые сигнатуры, характерные для злокачественных клеток печени человека, на основе анализа протеоформ, полученных методом секционного протеомного профилирования;
- путем комбинации секционного и панорамного протеомного профилирования в опухолевой ткани печени человека выделен ряд белков (52) со специфичными протеоформными паттернами;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные результаты вносят существенный вклад в развитие протеомики и биохимии онкологических заболеваний, расширяют представление о динамике изменения протеоформ при ГЦР и демонстрируют возможность использования современных протеомных методов для решения фундаментальных и прикладных задач биохимии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что полученные результаты открывают перспективы для использования протеоформных сигнатур в клинической практике для диагностики и прогноза ГЦР.

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается тем, что диссертантом использовались современные методы исследования, а результаты работы опубликованы в международных журналах с серьезным уровнем рецензирования поступающих в редакционный портфель статей.



Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании экспериментов, в пробоподготовке биологических образцов для секционного двумерного гель-электрофореза и протеомного анализа данных, биоинформатической интерпретации результатов, а также в подготовке публикаций.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

На заседании 13 февраля 2025 г. диссертационный совет принял решение присудить Зориной Елене Сергеевне учёную степень кандидата биологических наук за решение актуальных вопросов, связанных с расширением понимания молекулярных механизмов ГЦР, что открывает новые перспективы для поиска и валидации белковых маркеров, применимых для диагностики, прогноза и мониторинга гепатоцеллюлярного рака.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.5.4. Биохимия, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против - 0, недействительных бюллетеней – 0.

Зам. председателя Диссертационного совета  
доктор биологических наук, профессор



Медведев А.Е.

Ученый секретарь Диссертационного совета  
кандидат химических наук



Карпова Е.А.

13 февраля 2025 года