

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета НТУ.1.5.3.11

Прохорчука Егора Борисовича

на диссертацию Сырочевой Анастасии Олеговны

«Исследование взаимной регуляции экспрессии катепсина В и стефина А в процессе онкогенной трансформации клеток», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология

Актуальность темы диссертации

Тема диссертационной работы является актуальной для современной молекулярной биологии и биомедицины. Катепсин В является важным участником протеолитических процессов, связанных с ремоделированием внеклеточного матрикса, инвазией и прогрессией опухолей, а стефин А представляет собой его эндогенный ингибитор. Несмотря на значительный объем сведений о функциях катепсина В и цистатинов, механизмы взаимной регуляции *CTSB* и *STFA*, их связь с внутриклеточной локализацией, терапевтическим воздействием и ядерными процессами остаются недостаточно изученными. В связи с этим выбранная автором задача поиска и характеристики молекулярных механизмов взаимной регуляции экспрессии *CTSB* и *STFA* человека является своевременной, научно значимой и соответствует паспорту специальности 1.5.3 Молекулярная биология.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация построена традиционно и включает введение, обзор литературы, раздел материалов и методов, результаты и их обсуждение, выводы, список сокращений и список литературы. Работа изложена на 110 страницах, содержит 32 рисунка и 8 таблиц; библиографический список включает 172 источника. Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель, задачи, научная новизна и положения, выносимые на защиту. Обзор литературы посвящен структуре, биосинтезу и функциям катепсина В, характеристике стефина А, а также их роли в опухолевой трансформации. Экспериментальная часть основана на использовании клеточных линий Нек293Т, 769р и Du145, методов транзientной трансфекции, нокдауна, ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинга,

конфокальной микроскопии и иммунопреципитации хроматина. Основные результаты сгруппированы в логические подразделы, отражающие анализ коэкспрессии *CTSB* и *STFA*, влияние протеолитической активности *CTSB*, изменения внутриклеточной локализации, эффект доксорубина и возможную связь исследуемых белков с хроматином.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Научная новизна работы состоит в экспериментальном описании взаимосвязи между экспрессией катепсина В и стефина А в нормальных и опухолевых клеточных моделях. Автором показано, что протеолитическая активность *CTSB* может быть связана с изменениями продукции *STFA*, выявлена ядерно-цитоплазматическая локализация *STFA* и его колокализация с *CTSB*, а также получены данные о присутствии ядерных форм *CTSB* и *STFA* в комплексах с гистоном H3. Отдельный интерес представляет анализ динамики экспрессии *CTSB* и *STFA* при воздействии доксорубина, поскольку он связывает фундаментальный вопрос регуляции протеолиза с реакцией опухолевых клеток на терапевтический стресс. Совокупность результатов расширяет представления о регуляторной оси *CTSB*–*STFA* и ставит новые вопросы о возможной роли лизосомальных протеиназ и их ингибиторов вне классического лизосомального компартмента.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Теоретическая значимость диссертации заключается в развитии представлений о взаимной регуляции протеиназы *CTSB* и ее эндогенного ингибитора *STFA* на транскрипционном, трансляционном и субклеточном уровнях. Работа показывает, что отношения между протеиназой и ингибитором не сводятся к простой нейтрализации ферментативной активности, а могут включать изменения экспрессии, локализации и потенциального участия в ядерных процессах. Практическая значимость связана с возможностью дальнейшего использования соотношения *CTSB*/*STFA* как исследовательского параметра при оценке состояния опухолевых клеток и их ответа на терапевтические воздействия. Полученные данные могут быть полезны при разработке подходов к модуляции активности катепсина В и при поиске молекулярных маркеров ответа на противоопухолевую терапию.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основные положения и выводы диссертации в целом обоснованы представленными экспериментальными данными. Достоверность результатов обеспечивается использованием нескольких клеточных линий, сочетанием методов анализа мРНК и белка, применением микроскопических и биохимических подходов, а также статистической обработкой данных. Выводы соответствуют поставленным задачам и в целом вытекают из полученных результатов. Вместе с тем ряд интерпретаций сформулирован несколько шире, чем позволяют имеющиеся эксперименты; это касается прежде всего выводов о функциональном взаимодействии, изменении транскрипционной активности и участии CTSB/STFA в регуляции хроматина. Указанные ограничения не снижают общей ценности работы, но требуют более аккуратной формулировки отдельных положений.

Соответствие автореферата основному содержанию диссертации

Автореферат соответствует основному содержанию диссертации, отражает цель, задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, методологию исследования, положения, выносимые на защиту, основные результаты и выводы. Принципиальных расхождений между авторефератом и текстом диссертации не выявлено. Основные экспериментальные результаты и заключения представлены в автореферате в сжатой форме и позволяют составить адекватное представление о содержании диссертационного исследования.

Оценка диссертационного исследования

Диссертационная работа производит положительное впечатление. Автором выполнен значительный объем экспериментальной работы на актуальную тему, использован комплекс современных молекулярно-биологических методов, получены результаты, представляющие интерес для понимания механизмов регуляции катепсина В и стефина А при онкогенной трансформации клеток. Работа обладает внутренней логикой, содержит оригинальные данные и демонстрирует способность соискателя самостоятельно формулировать научные задачи, планировать эксперименты и интерпретировать полученные результаты.

Результаты диссертации опубликованы и апробированы, что подтверждает их востребованность научным сообществом.

Замечания по диссертации

По диссертационной работе имеются следующие замечания.

1. В тексте встречаются редакционные и технические неточности: опечатки, неудачные формулировки, несогласованность отдельных терминов, а также использование формы первого лица множественного числа в разделе 3.5, что нежелательно для единоличной диссертационной работы.
2. В ряде случаев не вполне последовательно оформлены ссылки на заимствованные или созданные с использованием BioRender иллюстрации; желательно единообразно указывать источник или способ подготовки рисунков.
3. В разделе материалов и методов целесообразно более подробно указать сведения об использованных антителах, включая каталожные номера, а также уточнить, какие именно антитела к гистону H3 применялись.
4. Имеются несоответствия в обозначениях плазмидных конструкций в материалах и методах и в разделе результатов, например *pcDNA-3.1-CTSB* и *pCTSB*, а также путаница в ссылках на рисунки и их нумерации на страницах 51–54.
5. Для ряда рисунков следовало бы более явно указать метод измерения соответствующих величин, в частности способ определения уровня мРНК целевого гена на рисунке 12, а также пояснить отдельные вопросы статистической значимости при визуально заметных различиях и малых погрешностях.
6. Интерпретация результатов трансфекции требует дополнительной осторожности: при экзогенной экспрессии одного белка и детекции эндогенной транскрипции другого возникает сложная система, включающая эндогенные и экзогенные регуляторные элементы, а сверхэкспрессия может влиять на физиологическую внутриклеточную локализацию белка.
7. Формулировки о функциональном взаимодействии *CTSB* и *STFA* и о репрессирующем эффекте на транскрипционную активность гена *CTSB*

представляются чрезмерно сильными; представленные данные скорее указывают на возможность такого взаимодействия и на сложный опосредованный эффект, требующий дальнейшей проверки.

8. Требуется обсуждения кажущееся противоречие между эффектами снижения уровня STFA и воздействием пептида PLVE: если уменьшение STFA повышает уровень CTSB, то необходимо объяснить, почему обработка PLVE, сопровождающаяся снижением STFA, не приводит к ожидаемому повышению CTSB.
9. Часть работы, связанная с иммунопреципитацией хроматина, является интересной, но нуждается в дополнительных технических контролях и пояснениях: важно соотнести количество связанного с хроматином CTSB/STFA с ядерным уровнем этих белков, показать отрицательные контроли на хроматин-несвязанные белки и обсудить возможность обратной иммунопреципитации или дальнейшего ChIP-seq анализа.

Указанные замечания носят дискуссионный и редакционно-методический характер и не ставят под сомнение основные результаты диссертационной работы.

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным
Положением о присуждении ученых степеней Автономной
некоммерческой образовательной организацией высшего образования
«Научно-технологический университет «Сириус»**

Диссертация Сырочевой Анастасии Олеговны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача молекулярной биологии, связанная с исследованием взаимной регуляции экспрессии катепсина В и стефина А в процессе онкогенной трансформации клеток. Работа содержит новые научные результаты, имеет теоретическую и потенциальную практическую значимость, а ее основные положения достаточно обоснованы экспериментальными данными.

Диссертационная работа Сырочевой Анастасии Олеговны «Исследование взаимной регуляции экспрессии катепсина В и стефина А в процессе онкогенной трансформации клеток» отвечает требованиям пп. 2.1–2.6, пп. 2.8–2.9 Положения о присуждении ученых степеней Автономной некоммерческой образовательной организацией высшего образования «Научно-технологический

университет «Сириус», утвержденного приказом от 02 апреля 2026 г. № 469-ОД-У, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Сырочева Анастасия Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология.

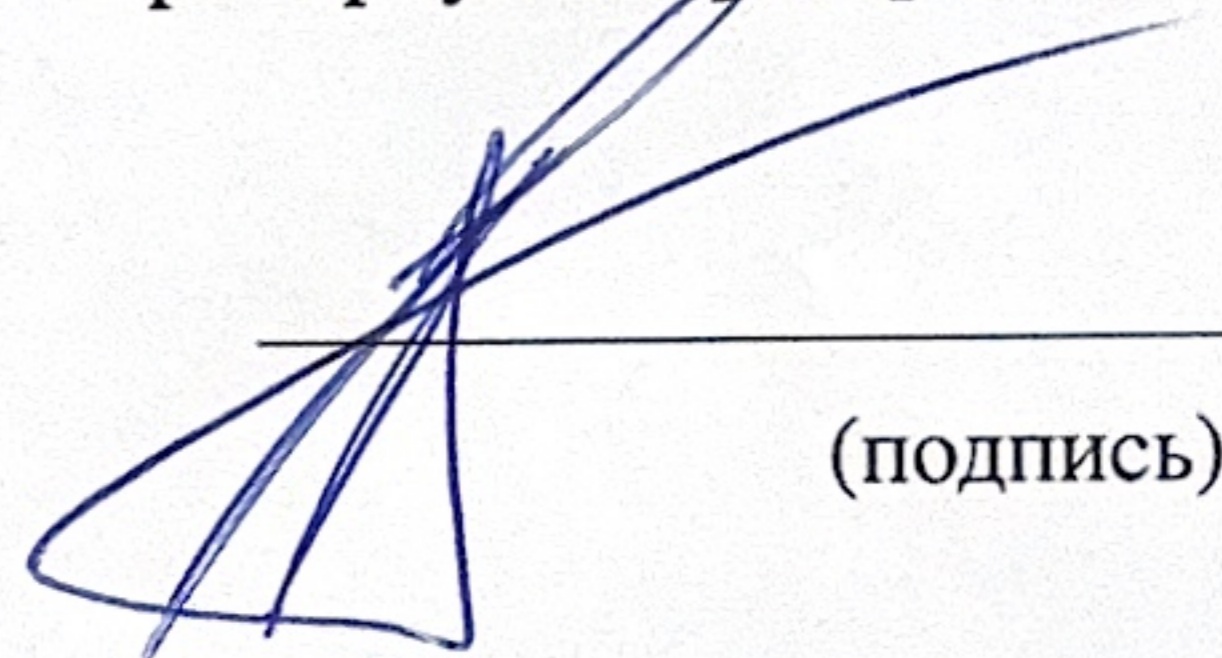
Член диссертационного совета НГУ.1.5.3.11

член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией геномики и эпигеномики позвоночных

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»

Дата: 19 июня 2026 г.

Проخورчук Егор Борисович



(подпись)

Сведения:

Проخورчук Егор Борисович

Докторская диссертация защищена по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Тема докторской диссертации: «Метил-ДНК связывающие белки с доменами цинковые пальцы: молекулярно-генетическая характеристика и анализ биологических функций методами нокаута».

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2; тел.: +7 (499) 135-53-37; e-mail: prokhortchouk@biengi.ac.ru.

Ученый секретарь
Федерального государственного учреждения
«Федеральный
исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»



/А.Ф. Орловский/