ОТЗЫВ

на диссертационную работу

АЙСИНОЙ ДАНЫ ЕВГЕНЬЕВНЫ

«Взаимодействие miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии рака молочной железы», представленную на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D070100 - Биотехнология

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами

Рак молочной железы (РМЖ) занимает одно из ведущих мест по утрате трудоспособности и причинам смерти от злокачественных новообразований у женщин и является одной из актуальных медико-социальных проблем современной онкологии. При раке молочной железы пик заболеваемости приходится на 45-60 лет, тогда как общая заболеваемость злокачественными опухолями увеличивается с возрастом, достигая максимума к 65-80 годам. В Казахстане РМЖ, по-прежнему, возглавляет список онкозаболеваний. По статистике в стране ежедневно умирает 4 женщины с таким диагнозом. Всего на учёте у онкологов состоит 180 тысяч казахстанцев. Комплексная борьба с раком включает в себя профилактику, раннюю диагностику, скрининг, лечение, паллиативную помощь и мониторинг состояния здоровья выздоровевших пациентов. При этом именно ранняя диагностика и скрининг значительно снижают смертность от рака молочной железы.

Благодаря интенсивному развитию молекулярной биологии, в настоящее время, для разработки методов ранней диагностики и скрининга РМЖ выявление в биологическом образце пациента генов маркеров и ассоциаций микроРНК и мРНК данных генов является актуальным направлением исследований. Обнаружение микроРНК и установление их участия в регуляции экспрессии генов дало огромный потенциал для дальнейшего изучения функций микроРНК в негативной регуляции и возможной вовлечённости в механизмы позитивной регуляции биологических процессов в клетке. Обнаружение наборов микроРНК, участвующих в регуляции процесса злокачественных новообразований молочной железы, привело к развитию нового направления исследований в данной области. Таким образом, диссертационная работа Айсиной Д.Е. «Взаимодействие miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии рака молочной железы» является перспективным и актуальным направлением исследований.

2. Научные результаты и их обоснованность

Целью представленной диссертации является изучение характеристик взаимодействия микроРНК с мРНК генов, участвующих в развитии рака молочной железы. Поставленная цель обоснована в обзоре литературы и отражает ее актуальность.

Результаты исследований обоснованы, проанализированы и обобщены.

Выявлены возможные характеристики регуляции экспрессии генов семейства факторов транскрипции *E2F* связыванием микроРНК с мРНК данных генов. Семейство E2F играет решающую роль в контроле клеточного цикла и действии белков опухолевых супрессоров. Данные результаты обоснованы и опубликованы.

Представленные в разделе 3.4 результаты показывают участие микроРНК - miR-1322, в развитии рака молочной железы, что подтверждено публикациями.

Показано, что характеристики взаимодействия микроРНК с мРНК генов специфичны для каждого субтипа рака молочной железы, следовательно могут использоваться для разработки методов ранней диагностики. Важной характеристикой взаимодействия микроРНК с мРНК является величина свободной энергии связывания микроРНК с мРНК кандидатных генов разных субтипов, которая выше в 5'UTR и CDS по сравнению с 3'UTR. Преимущественное связывание микроРНК в 5'UTR и CDS дает основание предположить о негативной регуляции экспрессии данных генов.

Организация сайтов связывания микроРНК с мРНК в кластеры позволяет многократно уменьшить долю нуклеотидных последовательностей сайтов связывания в мРНК. Данный результат важен и должен учитываться при дальнейшем изучении взаимодействия микроРНК с мРНК генов мишеней.

Впервые выявлено 5 генов *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* и *CCDC42B* из 17508 генов человека, которые полностью комплементарно связываются с соответствующими микроРНК. Показана высокая консервативность взаимодействия микроРНК с мРНК генов *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* и *CCDC42B* в течение десятков миллионов лет эволюции изученных видов животных. Полученные результаты показывают, что опосредованная микроРНК регуляция экспрессии данных генов возникла на ранних этапах эволюции животных. Показано, что ассоциации пяти пар miR-5p/miR-3p с мРНК генов *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* и *CCDC42B*

могут служить основой разработки методов ранней диагностики рака молочной железы.

Поставленная цель и задачи полностью решены, научно обоснованы; полученные соискателем научные результаты являются адекватными и соответствуют цели и задачам диссертационной работы.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого научного результата, выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации

Каждый из научных результатов исследования получен в соответствии с целью и задачами диссертации, является обоснованным, в совокупности диссертация представляет собой цельную, законченную работу. Приведенные данные получены *in silico* с помощью современной компьютерной программы MirTarget.

В выводе 1 приведено, что в формате для использования программой MirTarget созданы базы из 6226 микроРНК и 602 кандидатных генов рака молочной железы для расчета характеристик взаимодействия микроРНК с мРНК генов мишеней. Созданы выборки генов-кандидатов, отвечающих за развитие следующих подтипов рака молочной железы: HER2 – положительного не люминального, люминального А, люминального В и тройного негативного.

Вывод 2 обоснован приведенными в разделах 3.3, 3.4 результатами характеристик взаимодействия микроРНК с мРНК генов семейства транскрипционных факторов E2F, которые участвуют в регуляции клеточного цикла (*E2F1-E2F3*) и апоптоза (*E2F4-E2F8*). Некоторые гены, участвующие в развитии рака молочной железы, являются мишенями для miR-1322, полисайты связывания которой кодируют олигопептиды.

Данные вывода 3 опубликованы в двух статьях и демонстрируют важные характеристики взаимодействия микроРНК с мРНК такие как, локализация сайтов связывания в 5'UTR, CDS и 3'UTR мРНК; величина свободной энергии взаимодействия микроРНК с мРНК; схемы связывания нуклеотидов микроРНК с мРНК 31 кандидатного гена субтипа HER2 – положительного не люминального рака молочной железы.

Данные выводов 4 и 5 опубликованы в двух статьях, в которых отражена структурная организация сайтов связывания микроРНК с мРНК; вычислены величины свободной энергии взаимодействия микроРНК с мРНК; составлены схемы связывания нуклеотидов микроРНК с мРНК 20

кандидатных генов РМЖ подтипов люминальный А и В, и с мРНК 50 кандидатных генов РМЖ подтипа тройной негативный.

Результаты лежащие в основе вывода 6 опубликованы в трех публикациях и демонстрируют наличие установленной локализации сайтов связывания микроРНК в каждой из 101 мРНК кандидатных генов РМЖ. В мРНК 25 генов выявлена организация сайтов связывания микроРНК в кластеры, состоящие из сайтов связывания двух и более микроРНК. Кластерная организация сайтов связывания приводит к компактизации сайтов связывания и конкуренции между микроРНК за связывание в кластере.

В выводе 7 приведены установленные характеристики сайтов связывания пар miRNA-5p и miRNA-3p с мРНК ортологичных генов *FOXF2, PLPPR3, KIAA2026, GLYCTK* и *CCDC42B*, которые были сходными. Выявлены ассоциации пар miRNA-5p и miRNA-3p с мРНК генов-мишеней, которые авторы предлагают для разработки методов диагностики рака молочной железы. Полученные выводы опубликованы в трех статьях.

Вывод 8 обоснован приведенными в разделах 3.5, 3.5.1, 3.5.2, 3.6, 3.6.1, 3.6.2, 3.7, 3.7.1, 3.7.2 результатами. Выявленные ассоциации микроРНК и кандидатных генов подтипов HER2 – положительного не люминального, люминального А, люминального В и тройного негативного РМЖ рекомендуются для разработки методов диагностики данных подтипов РМЖ.

Каждый вывод диссертации является логическим заключением полученных результатов. Достоверность результатов диссертации не вызывает сомнений, данные получены при помощи адекватной программы MirTarget, результаты исследований отражены в публикациях соискателя.

4. Степень новизны каждого научного результата вывода соискателя, сформулированных в диссертации

В диссертационной работе соискателя представлены результаты, обладающие высокой степенью новизны:

- впервые установлены характеристики взаимодействия микроРНК с мРНК генов, связанных с развитием РМЖ и выявлены сайты взаимодействия микроРНК с различными участками мРНК генов-мишеней;

- впервые выявлено, что из 602 кандидатных генов рака молочной железы, только мРНК гена *E2F3* содержит множественные сайты для 22 микроРНК в CDS; выявлено, что взаимосвязи сайтов связывания этих микроРНК с мРНК сложились достаточно давно и на протяжении миллионов

лет дивергенции изученных объектов данные взаимосвязи практически не изменились;

- впервые установлена кластерная организация сайтов связывания микроРНК в мРНК кандидатных генов РМЖ;

- впервые определены характеристики сайтов связывания микроРНК в мРНК кандидатных генов подтипов HER2 – положительного не люминального, люминального А, люминального В и тройного негативного (базальноподобного) РМЖ;

- впервые выявлены ассоциации микроРНК и мРНК генов, участвующих в развитии РМЖ, которые предложены в качестве диагностических маркеров.

5. Практическая и теоретическая и значимость научных результатов

Диссертационная работа Айсиной Д.Е. выполнена на хорошем методологическом и научном уровне, представляет собой законченное исследование с возможностью использовать полученные *in silico* данные для дальнейших разработок методов ранней диагностики различных подтипов РМЖ. Полученные результаты существенно расширяют представление о функциях микроРНК в регуляции онкогенеза.

6. Замечания, предложения по диссертации

1. Наличие небольшого количества опечаток в работе.

2. В обсуждение или заключение неплохо было бы добавить насколько актуальны выявленные Вами взаимодействия для диагностики РМЖ нашего региона? Как это конкретно поможет диагностике заболевания в Казахстане, какой тип рака превалирует у больных РМЖ Казахстана, что поможет выделить важность и актуальность проделанной Вами работы для онкологии нашего региона;

3. В обсуждении нет раздела показывающего насколько Ваши предсказания совпадают с общемировой клинической картиной при РМЖ. Какова вероятность, что выявленные Вами взаимодействия будут актуальны в живом организме? Данный раздел поможет развитию практического применения полученных Вами экспериментальных данных.

4. Наличие в разделе «Выводы» небольшого описания различий исследуемых Вами подтипов РМЖ, их прогноза и течения заболевания,

упростит понимание важности полученных результатов для широкого круга неспециалистов в области онкологии.

Сделанные замечания не уменьшают ценность данной работы и не влияют на основные положения, выносимые на защиту.

7. Соответствие содержания диссертации в рамках требований Правил присуждения ученых степеней

Диссертация выполнена соискателем на высоком научно-исследовательском уровне. Диссертационная работа изложена на 125 страницах, иллюстрирована двумя рисунками и 60 таблицами, список использованных источников для написания работы состоит из 290 наименований. Основные результаты диссертации опубликованы в 25 печатных работах, в том числе 1 статье в международном журнале с ненулевым импакт-фактором, цитируемом в Web of Science, девяти статьях в республиканских научных журналах из перечня Комитета по контролю в сфере образования и науки, 15 тезисах в материалах международных конференций. Имеется акт внедрения в учебный процесс по дисциплине «Бионанотехнологии в диагностике и терапии». Диссертация обладает научной новизной, высокой актуальностью, теоретической и практической значимостью.

Выполненная диссертационная работа Айсиной Д.Е. полностью соответствует требованиям «Правил присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертационным работам. Айсина Дана Евгеньевна заслуживает присуждение ученой степени доктора философии (PhD) по специальности 6D070100-Биотехнология.

Официальный рецензент:

Ведущий научный сотрудник лаборатории противовирусной защиты ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», PhD _____ А.С. Турмагамбетова

18.11.2019 г.