

05 ГРУ 2018

Вх. №

76/03-07

## ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу МАНОЙЛОВА КИРИЛА ЮРІЙОВИЧА на тему “БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РЕКОМБІНАНТНИХ ФРАГМЕНТІВ МОЛЕКУЛИ ДИФТЕРІЙНОГО ТОКСИНУ”, що представлена в спеціалізовану вчену раду Д 26.240.01 Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія**

Дисертаційна робота Кирила Юрійовича Манойлова присвячена вивченню молекулярних основ взаємодії структурно-функціональних фрагментів молекули дифтерійного токсину з клітинами тварин та людини. Рекombінантні аналоги дифтерійного токсину знаходять використання у біотехнології як засоби маніпуляції життєвими процесами клітин та у медицині як компоненти вакцин та засобів для пригнічення росту і розвитку пухлин в організмі людини. Розробка біомедичних засобів на основі дифтерійного токсину ще досі є перспективною для технології пригнічення росту і розвитку малігнізованих клітин в організмі людини. Отже, представлена до захисту наукова робота безсумнівно є актуальною як з фундаментальної, так і з прикладної точки зору.

Отримані Кирилом Юрійовичем результати можуть бути основою для розробки новітніх технологій пригнічення росту і розвитку різноманітних злоякісних клітин в організмі людини.

Дисертаційна робота викладена на 135-ти сторінках друкованого тексту, має класичну структуру і гарне оформлення. Незначні граматичні помилки та недоліки в оформленні не впливають на якість роботи в цілому.

Огляд літератури охоплює велику кількість літературних даних за темою дисертаційної роботи та детально описує сучасний стан, перспективи та проблеми у вивченні дифтерійного токсину. Наукові питання, які не знайшли вирішення на даний момент, і які відносяться до теми дисертаційної роботи були чітко сформульовані і обґрунтована необхідність проведення відповідних наукових досліджень за темою дисертаційної роботи. В роботі використовувалися сучасні та гарно сплановані методи дослідження, які дозволили детально та різнобічно вивчити поставлені в дисертації завдання.

Результати роботи представлені у вигляді 5-ти окремих розділів, які повністю висвітлюють та систематизують отримані експериментальні дані. Зокрема, було досліджено взаємодію нативного дифтерійного токсину та його рекombінантних похідних з рекombінантним HB-EGF чутливих та резистентних до дії токсину організмів, кінетичні параметри зв'язування рекombінантних похідних ДТ із рецепторами на поверхні чутливих та резистентних до дії токсину клітин, інтерналізацію флуоресцентно мічених похідних дифтерійного токсину та її часові залежності, участь транслокаційного домену у процесах інтерналізації та внутрішньоклітинного везикулярного транспорту рекombінантних структурних фрагментів молекули дифтерійного токсину, іон-провідні властивості похідних

дифтерійного токсину у штучних ліпідних бішарах, цитостатичні властивості окремих рекомбінантних фрагментів ДТ.

Великий обсяг досліджень, проведених Кирилом Юрійовичем, аналіз отриманих результатів та їх співставлення з літературними даними дозволили зробити важливі висновки та висунути ряд гіпотез. Дуже важливим висновком роботи є те, що саме рекомбінантна субодиниця В дифтерійного токсину є найменшим за розміром нетоксичним структурним аналогом дифтерійного токсину, що має найбільший цитостатичний ефект на ракові клітини *in vitro*.

Оформлення дисертації відповідає прийнятим вимогам до дисертацій, що подаються до захисту на здобуття ступеня кандидата біологічних наук, а зміст автореферату відповідає основним положенням дисертаційної роботи. Всі експериментальні дані, наведені у дисертації, ретельно та критично проаналізовані, що дозволяє вважати цю роботу завершеним науковим дослідженням за зазначеною темою.

За обсягом, предметом та методами дослідження дисертація цілком відповідає спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Зауважень щодо дисертаційної роботи Кирила Юрійовича, які могли б суттєво вплинути на результати немає. Проте хотілось би почути від автора роботи відповідь на наступні на мій погляд важливі зауваження:

- При дослідженні ендосомальної локалізації рекомбінантних фрагментів ДТ та їхньої колокалізації в клітині не було використано маркерів ендосом або інших органел, що ставить під питання отримані результати.
- Крім того, у зв'язку з цим, не можна казати про загальну кількість ендосом чи їх загальну площу. Можливо, і скоріш за все, загальна кількість ендосом та їх площа не міняються, а міняються кількість і площа ендосом в які вбудовані флюорисцентно-мічені досліджувані фрагменти ДТ оскільки за допомогою їх вини і візуалізувалися.
- Наступне зауваження полягає у великій кількості мутацій в досліджуваних рекомбінантних білках про які вперше згадується аж у розділі узагальнення результатів. Ця інформація є важливою оскільки якщо лише одна чи дві амінокислотні заміни можуть суттєво вплинути на функціонування молекул, як описано в огляді літератури, то 5-ть амінокислотних замін тим паче можуть вплинути, зокрема, наприклад, надати здатність взаємодіяти з рецептором резистентних до токсину видів. Тож виходить, що в роботі вивчалися не фрагменти ДТ, а фрагменти мутантного ДТ, причому конкретного для цієї роботи, а у дикого типу ДТ можуть бути зовсім інші властивості.

Вищенаведені питання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи Кирила Юрійовича, який успішно виконав всі наукові завдання для досягнення поставленої мети.

**Загальний висновок.**

Вважаю, що дисертаційна робота Манойлова Кирила Юрійовича “Біологічні властивості рекомбінантних фрагментів молекули дифтерійного токсину” за актуальністю проблеми, науковою новизною, можливістю практичного використання отриманих результатів, а також достовірністю зроблених висновків відповідає вимогам п.п. 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., а автор роботи, Манойлов Кирило Юрійович, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент,  
к.б.н., с.н.с. відділу функціональної геноміки  
Інституту молекулярної біології і  
генетики НАН України



Кропивко С.В.

