

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию

Екатерины Сергеевны Новоселецкой

«Выяснение роли мезенхимных стромальных клеток в регуляции направленной дифференцировки и перепрограммирования стволовых клеток»
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.08 – «Биоинженерия»

Диссертация Екатерины Сергеевны Новоселецкой «Выяснение роли мезенхимных стромальных клеток в регуляции направленной дифференцировки и перепрограммирования стволовых клеток» посвящена очень интересной и актуальной теме исследования механизмов регуляции функционального состояния стволовых клеток и роли ниши, и в частности, компонентов внеклеточного матрикса, в этой регуляции. Данная тематика имеет, помимо, фундаментального, огромное практическое значения, связанное со все более активным использованием стволовых клеток в медицине.

Диссертация Е.С.Новоселецкой выполнена по общепринятому плану и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы.

Раздел «Обзор литературы» содержит достаточно полную сводку данных о современном состоянии проблемы и о новых аспектах, которые связывают биологию стволовых клеток со свойствами их микроокружения, что указывает на хорошее знание Е.С.Новоселецкой научной проблематики и свободное ориентирование в огромном массиве накопленных научных данных в исследуемой области. В обзоре присутствует достаточное количество иллюстраций, облегчающих читателю знакомство с темой исследований. Из обзора литературы вполне логично вытекает план исследований, который и был реализован в ходе выполнения данной работы.

В разделе «Материалы и методы» подробно описываются все экспериментальные процедуры, использованные в работе. Диссертант в ходе работы над проектом использовал богатый арсенал классических и современных методов, включая методы биохимии и молекулярной биологии, клеточные технологии, флуоресцентную и электронную микроскопию. Однако к методической части работы есть некоторые вопросы. Так, использование формальдегидной фиксации при пробоподготовке для сканирующей электронной микроскопии мне кажется неоправданным. Кроме того, недостаточно подробно описаны протоколы морфометрического анализа (в частности, измерения площади клеток), что затрудняет интерпретацию результатов.

В разделе «Результаты» последовательно решаются задачи, которые Е.С.Новоселецкая поставила перед собой на основании анализа научной литературы. Основные усилия Е.С.Новоселецкой были направлены на разработку протоколов децеллюляризации внеклеточного матрикса для моделирования ниши стволовых клеток и на анализ влияния различных особенностей ВКМ на регуляцию активности стволовых клеток. В частности, было показано, что регуляторная роль ВКМ осуществляется через фосфорилирование компонентов FAK- и ERK-каскадов, что потенцирует стволовые клетки с стимулирующим дифференцировку сигналам, тогда как ингибирование Src- и Akt-каскадов способствует поддержанию стволовости. Также было обнаружено влияние ВКМ на транслокацию бета-катенина. Здесь было бы интересно добавить анализ уровней экспрессии ламина А, который, с одной стороны, секвестрирует бета-катенины на ядерной ламине, а с другой стороны, является важным компонентом системы механотрансдукции, непосредственно связывающей адгезию клеток к субстрату и активацию генов. Это тем более важно, что автором была показана вовлеченность интегрин-зависимой адгезии в регуляторные свойства дВКМ по отношению к дифференцировке МСК. Препараты дВКМ показали свою активность в качестве модуляторов ремоделирования костной ткани, что добавляет важнейший практический аспект к данному исследованию, поскольку разработки Е.С.Новоселецкой могут иметь широкую область применения в регенеративной медицине.

В качестве мелких недостатков раздела «Результаты» я бы отметил недостаточно глубокий анализ результатов флуоресцентной микроскопии. Так, визуально, на рис. 11Ж и 11З интенсивность сигнала в режиме генерации второй гармоники сильно различаются. Автор никак эти данные не интерпретирует, а такие различия могут свидетельствовать о степени потерь материала внеклеточного матрикса при различных методах децеллюляризации. В некоторых случаях, например на рис.9, 12, использование малоконтрастных изображений, снятых на малом увеличении и представленных в компактном виде, представляется мало информативным. Не везде подписи к рисункам и соответствующие обозначения несут исчерпывающую информацию. Результаты МТТ-теста для оценки пролиферативной активности клеток на децеллюризованном матриксе сложно однозначно интерпретировать, поскольку данный эксперимент является многофакторным и влияние метода получения матрикса на адгезию клеток может вносить искажения. Наверное, имело смысл дополнить МТТ-тест альтернативными методами анализа пролиферации.

В тексте также выявлено некоторое количество опечаток, неудачных переводов с английского и жаргонизмов (например “пластическая адгезия”, “пролиферативные клетки”, “низкомолекулярные молекулы”), но на передачу смысла они не оказывают никакого влияния. Таким образом, моя критика несколько не снижает моей высокой оценки работы Е.С.Новоселецкой.

По научно-методическому уровню работа Е.С.Новоселецкой отвечает современным требованиям к исследованиям в области биохимии/клеточной биологии. Считаю, что диссертация Е.С.Новоселецкой «Выяснение роли мезенхимных стромальных клеток в регуляции направленной дифференцировки и перепрограммирования стволовых клеток» является полноценным научным исследованием, решающим важные фундаментальные и практические задачи современной биологии. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.08 – «Биоинженерия» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова и

критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова и приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.08 – «Биоинженерия».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
заведующий отделом электронной микроскопии
НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского
МГУ имени М.В.Ломоносова



Киреев Игорь Игоревич

«31» августа 2021 г.

Контактные данные:

тел.: 7(495)9395528; e-mail: kireev@genebee.msu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Адрес места работы:

119234, г. Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр.40

МГУ имени М.В.Ломоносова,

НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского

Тел.: 7(495)9395528; e-mail: kireev@genebee.msu.ru

Одному Кирееву И.И. удостоверяю.

Зачаюши

отдела кадров



И.И. Давыдов