**РЕЦЕНЗИЯ**

**на выпускную квалификационную работу**

**Горбач Дарьи Петровны**

**по теме «** **Анализ изменений в протеасомо-ассоциированном протеоме клеток множественной миеломы человека при сочетанной обработке специфическими препаратами-ингибиторами»**

Рецензируемая работа представляет собой научное исследование в области, связанной с актуальной медико-биологической проблемой диагностики и терапии онкологических заболеваний, а ее результаты могут рассматриваться в качестве предпосылок для разработки новых биомаркеров и терапевтических мишеней множественной миеломы человека. Материалом для проведения исследования стали клетки множественной миеломы, обработанные различными сочетаниями терапевтических препаратов, одним из которых во всех вариантах был тот или иной ингибитор протеасом. Ингибиторы протеасом в настоящее время рассматриваются в качестве перспективных терапевтических агентов, поскольку субстратами для протеасомной деградации являются онкосупрессоры, компоненты их сигнальных путей. С другой стороны, подавление активности протеасомного аппарата помогает выявить специфические белки-участники формирования патогенеза при том или ином онкологическом заболевании, это определяет фундаментальную составляющую рецензируемой работы. В работе исследовался спектр белков, взаимодействующий с протеасомной субъединицы α7 (PSMA3), которая отвечает за связывание субстратов убиквитин-независимого пути протеолитической деградации.

Работа Горбач Д.П. изложена на 65 страницах и включает в себя разделы «Введение», «Цели и задачи», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты и обсуждение», «Выводы», «Список литературы». Работа иллюстрирована 9 рисунками и 2 таблицами. В списке литературы содержится 116 ссылок исключительно на англоязычные литературные источники, значительная доля из которых – работы последних 5 лет.

В разделе «Введение» аргументируется актуальность темы работы, обосновывается цель исследования, заключающаяся в анализе интерактома протеасомной субъединицы α7 в цитоплазме и нуклеоплазме клеток множественной миеломы после их обработки различными сочетаниями препаратов-ингибиторов.

В раздел «Обзор литературы» подробно рассматриваются современные научные представления о биологической роли, структуре, гетерогенности и механизмах функционирования протеасом, а также о множественной миеломе человека, о структуре и механизмах действия противопухолевых препаратов, являющихся протеасомными ингибиторами, и препаратов другого типа действия, использованных в экспериментальной части работы. Отдельные подразделы обзора литературы посвящены использованию методов масс-спектрометрии в протеомике и применению протеомных подходов для поиска онкомаркеров.

Для решения поставленных задач автор использовал широкий спектр методов биохимии, молекулярной биологии, иммунохимии. Большой раздел работы связан с применением методов биоинформатики. Описание методов представлено в соответствующем разделе работы.

В ходе выполнения экспериментальной части работы автор получил рекомбинантную протеасомную субъединицу α7 в составе белка слияния с глутатион-S-трансферазой, что позволило в дальнейшем выделить взаимодействующие с этой субъединицей белки методом аффинной хроматографии pull-down. Белки были выделены из цитоплазмы и нуклеоплазмы клеток, предварительно обработанных тремя различными сочетаниями терапевтических препаратов. Выделенные белки идентифицировали методом фингерпринт масс-спектрометрии. Далее автор анализирует полученные результаты, выдвигая предположения об перспективности использования идентифицированных белков в качестве биомаркеров или терапевтических мишеней множественной миеломы с использованием данных биоинформатического анализа и литературных данных.

По результатам работы автор делает 3 вывода. Выводы корректны и соответствуют полученным результатам.

В качестве замечаний к работе можно упомянуть отсутствие в тексте ссылок на некоторые рисунки, недостаточно подробное описание некоторых деталей исследования (например, это касается структуры используемой в работе плазмиды и источника ее происхождения), иногда неудачный перевод с английского в обзоре литературы (такие словосочетания, как «расщепление основных и гидрофобных связей», «N-концевые участки треонинов»).

По ходу обсуждения полученных результатов автор отмечает отличия в спектре белков, взаимодействующих с PSMA3, в клетках, обработанных сочетанием препаратов флавопиридол-карфилзомиб, в сравнении с другими вариантами обработки. Эти отличия автор связывает с действием карфилзомиба. Но использованный в этом же сочетании флавопиридол также является уникальным только для этого варианта обработки. В связи с этим, хотелось бы узнать мнение автора, в какой степени наблюдаемые различия в интерактомах могут быть связаны с действием флавопиридола. В дальнейших исследованиях это может быть проверено экспериментально при обработке клеток только одним препаратом и последующем исследовании интерактома PSMA3.

Подводя итог, можно отметить, что в целом рецензируемая работа соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, а по объему полученного экспериментального материала и превосходит их. Изложенные в рецензии замечания и вопросы не являются принципиальными. Таким образом, выпускная квалификационная работа Горбач Д.П., несомненно, заслуживает оценки "**отлично**".

«31»мая 2018 г.

Рецензент

к.б.н., доцент каф. биохимии СПбГУ Берлов М.Н.