ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
Панамарева Никиты Сергеевича
«Биолюминесцентный иммуноанализ белка сурвивина в моче при диагностике рака мочевого пузыря» по специальности 1.5.6. Биотехнология на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Актуальность темы

Разработка инновационных методов диагностики и прогнозирования онкопатологий является крайне важной задачей для российского здравоохранения. В частности, высокая распространенность и склонность к рецидивам рака мочевого пузыря диктуют необходимость поиска неинвазивных диагностических альтернатив «золотому стандарту» - цистоскопии, инвазивной и довольно дорогой процедурой. В качестве перспективного маркера рассматривается белок сурвивин, однако его низкая концентрация в моче (на уровне десятков пг/мл) требует создания высокочувствительных аналитических систем. Диссертационное исследование Панамарева Н.С., посвящённое разработке иммуноферментного анализа этого маркера с применением генетически модифицированных целентеразин-зависимых люцифераз в качестве высокочувствительных репортеров, обладает высокой научной и практической значимостью, отвечая на актуальный запрос клинической медицины.

Целью диссертационной работы диссертанта являлось разработка высокочувствительного биолюминесцентного способа выявления сурвивина в моче человека и установление перспективности данного маркера для диагностики и прогнозирования рака мочевого пузыря. Поставленные для достижения этой цели задачи (получение, исследование свойств биоспецифичных биолюминесцентных репортеров на основе целентеразин-зависимых люцифераз и разработка дизайна анализа сурвивина на их основе, проверка разработанного аналитического метода на модельных и клинических образцах мочи, проведение статистического анализа результатов, определение значимости содержания сурвивина в моче как диагностического и прогностического параметра при раке мочевого пузыря, определение перспективности использования сурвивина в комбинации с другими онкомаркерами для выявления ранних стадий РМП) успешно решены в ходе выполненных методически сложных исследований.

Научная новизна работы и практическая значимость полученных результатов

В данной работе впервые предложен дизайн высокочувствительного способа детекции онкомаркера сурвивина, основанный на применении целентеразин-зависимых люцифераз. Авторами синтезированы оригинальные репортерные молекулы, сочетающие функции биоспецифического распознавания и биолюминесцентной индикации и изучены их основные биохимические свойства. Практическая значимость исследования определяется тем, что был установлен пороговый уровень сурвивина, имеющий диагностическое значение для выявления рака мочевого пузыря. Полученные данные подтверждают установленную

корреляцию между концентрацией этого маркера в моче и клинически неблагоприятными параметрами опухоли.

Структура диссертационной работы

Работа изложена на 120 страницах рукописного текста и включает: введение, обзор литературы, описание методов исследования, изложение результатов исследования и их обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы (137 источников). Диссертационная работа содержит 9 таблиц и 43 рисунка.

Во **введении** обоснована актуальность темы диссертационного исследования. Сформулированы цель и задачи исследования. Дана оценка научной новизны, научная и практическая значимость. Представлены положения, выносимые на защиту. Изложены сведения об апробации работы.

Первая глава представляет собой обзор литературы по теме исследования и включает 2 раздела. В первом разделе диссертант приводит сведения о структурной и функциональной характеристике белка сурвивина, его потенциале как маркера онкологических заболеваний, в том числе и рака мочевого пузыря, а также о существующих на данный момент способах выявления данного белка в биологических образцах, их преимуществах и недостатках. Во втором разделе литературного обзора приведены сведения о целентеразин-зависимых биолюминесцентных системах люциферазного и фотопротеинового типов, их практическом применении, в том числе и в высокочувствительном молекулярном анализе. Проведён анализ собранного литературного материала, полученного из современных источников, логично обоснованы необходимость и актуальность данного исследования.

Во **второй главе** диссертации описаны материалы и методы, использованные в исследовании. Подробно изложены все проведённые процедуры, реактивы и оборудование, что необходимо для воспроизведения результатов работы. Также приведены статистические методы, использованные для обработки экспериментальных данных.

В **третьей главе** представлены результаты работы и их обсуждение. Глава поделена на 4 раздела. В первом разделе показано получение генетической конструкции, кодирующей сурвивин, а также очищенного препарата рекомбинантного сурвивина, проверена его биоспецифичность. Во втором разделе описано получение биолюминесцентных репортеров на основе фотопротеина обелина – в виде генетически слитого гибридного белка а также химически синтезированного коньюгата, изучены их основные свойства. Полученные репортеры были использованы для разработки иммуноанализа сурвивина в конкурентном и сэндвич форматах. В третьем разделе представлен вариант иммуноанализа сурвивин на основе люциферазы NanoLuc, показаны высокие аналитические характеристики этого варианта. Разработанный метод испытан на модельных и клинических образцах мочи, полученные результаты сравнивали с таковыми для коммерческого колориметрического набора. Раздел 4 содержит данные о полученной диагностической и прогностической значимости сурвивина, полученных при помощи разработанного способа выявления данного белка. Показана перспективность выявления двух онкомаркерков в моче, сурвивина и

CYFRA 21-1 для повышения диагностической чувствительности заболевания, особенного при диагностики ранних стадий рака мочевого пузыря.

Итоговый раздел диссертации включает «**Заключение**» и «**Выводы**». В них кратко обобщены результаты работы, обозначены перспективы практического применения. Сформулированные выводы следуют из изложенных результатов и полностью соответствуют задачам.

Текст автореферата отражает содержание диссертации. Цели, задачи, сформулированные тезисы, выводы автореферата полностью соответствуют таковым из текста диссертации.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов

Достоверность полученных результатов определяется применением современных методов биотехнологии и молекулярной биологии, достаточным объёмом экспериментальных данных (группа исследования включает в себя 188 пациентов) и использованием корректных методов статистического анализа. Результаты исследования согласуются с данными, полученными в ходе анализа литературных источников. Сформулированные выводы обоснованы, логически вытекают из поставленных задач и полностью соответствуют результатам проведенной работы.

При ознакомлении с диссертацией и авторефератом Панамарева Н.С. возникли следующие **вопросы и замечания**:

1 Подписи к рисункам в составе литературного обзора не переведены на русский язык.

2. Сверхэкспрессия белка сурвивина при различных типах раках на уровне рнк может не совпадать с уровнем белка в клетке. Было бы интересно обсудить это в литературном обзоре, анализируя результаты таблицы 1.

3. В состав литературного обзора было бы интересно включить абзац про известные современные коммерческие тест системы для онкомаркера сурвивина в целом(на примере наборов для научных исследований).

4. Диссертация несет ряд опечаток и технических ошибок.

Указанные вопросы и замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Они носят частный и дискуссионный характер, не затрагивают существа положений, выносимых на защиту, и не снижают общую положительную оценку работы.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 5 статей в научных рецензируемых изданиях, входящих в список ВАК или индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science, из которых 2 в журналах первого и второго квартилей. Результаты работы прошли апробацию на 4 научных конференциях всероссийского и международного уровня, по итогам которых были опубликованы тезисы в соответствующих сборниках материалов конференций.

Заключение.

Таким образом, диссертация Панамарева Никиты Сергеевича является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по созданию высокочувствительной системы иммуноанализа опухолевого маркера сурвивина в моче на основе биолюминесцентных репортёров для диагностики и прогностики рака мочевого пузыря, имеющей существенное значение для развития

биотехнологии в области создания биоаналитических систем для медицинской диагностики, и соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Официальный оппонент:
Антипова Надежда Викторовна
кандидат биологических наук
(по специальности 03.01.03 – молекулярная биология),
старший научный сотрудник лаборатории мембранных биоэнергетических систем отдела функционирования живых систем,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (117997, Российская Федерация, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10 к. 1)
89[redacted]7,
n[redacted].com

_____[redacted]_____/ Антипова Н.В. /
(подпись) *(расшифровка подписи)*

Дата «16» сентября 2026 г.

Подпись Антиповой Н.В. заверяю.

Начальник отдела кадров _____[redacted]_____/ СПЕЦИАЛИСТ ОТДЕЛА КАДРОВ ТИМОШЕНКО Н.А. /
(подпись) *(расшифровка подписи)*

Дата «17» сентября 2026 г.

Печать организации

[redacted]