

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента  
о диссертационной работе

**Бурдина Дмитрия Валерьевича**

на тему

«Физиологические и биохимические эффекты сверхэкспрессии  
аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических  
наук  
03.03.01 - физиология.

Диссертационная работа Бурдина Дмитрия Валерьевича посвящена исследованию эффектов сверхпродукции аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2 у трансгенных мышей. В работе впервые получена трансгенная линия мышей, продуцирующих аланин-глиоксилат аминотрансферазу 2, что позволяет изучить опосредованные эффекты этого белка на сосудистый тонус.

### **Актуальность работы.**

Актуальность исследования эффектов сверхпродукции аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2 (AGXT2) связана с тем, что данный белок вовлечён в регуляцию уровня оксида азота, активация биосинтеза которого связана с развитием сердечно-сосудистых заболеваний.

### **Научная новизна.**

Автор впервые разработал трансгенную модель, позволяющую делать выводы о физиологической роли белка AGXT2B. Использование этой модели уже позволило получить данные об эффектах сверхпродукции

этого белка на влиянии трансгенной сверхэкспрессии AGXT2 на фенотипические особенности мышей, а также об эффектах сверхпродукции этого белка на тканевой метаболизм ключевых регуляторов гомеостаз оксида азота.

### **Научно-практическая значимость диссертационной работы.**

Несмотря на то, что исследование носит фундаментальный характер и не направлено непосредственно на разработку лекарственных средств, можно отметить, что предложенная модель может быть полезна для разработки лекарственной терапии, способной модулировать активность AGXT2 и тем самым влиять на уровень оксида азота в крови пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

### **Апробация результатов.**

Материалы диссертации были представлены на двух международных и конференциях. Результаты, полученные автором, опубликованы в 3-х статьях в журналах, рекомендуемых ВАК.

### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа Бурдина Дмитрия Валерьевича написана по общепринятому плану и включает в себя стандартные разделы. Диссертация изложена на 152 страницах, включая приложения. «Список литературы» включает 309 наименований. Обращает на себя внимание чёткая логика изложения материала.

Сразу хочется отметить, что работа интересная, выполнена на высоком методическом уровне и написана хорошим языком. Замечания в большинстве своём касаются оформления работы.

Подраздел «Актуальность темы исследования» (стр. 5 -7) выглядит слишком громоздким и по существу представляет собой дополнение к «Обзору литературы». Излишняя детализация в этом разделе неуместна. Достаточно обозначить суть работы, и показать, почему она актуальна.

Есть замечание к формулировке второй задачи (стр. 7):

«Изучение особенностей экспрессии и локализации гена hAGXT2 на уровне транскрипции и на белковом уровне в различных тканях трансгенных мышей и мышей дикого типа».

Локализовать ген на уровне транскрипции и на белковом уровне нельзя. Исследуемый трансген локализуется на одной из хромосом, и авторы не определяли на какой именно. Это сделать не сложно, и вполне уместно. Совершенно очевидно, что в тексте речь идёт о локализации белка в клетке.

Также есть неправильная формулировка на странице 11 (второй абзац):

«Основным толчком к открытию NO послужили эксперименты, проведенные Furchgott и соавторами в 1980 году на изолированной аорте кролика (Furchgott, Zawadzki, 1980)».

Оксид азота был открыт гораздо раньше, и автор просто не точно изложил свою мысль.

Рисунок 9 на странице 52 слишком мелкий, что затрудняет восприятие.

В конце Обзора литературы мне не хватило общего заключения. Этот раздел должен подводить читателя к восприятию результатов, и было бы уместно обобщить те моменты, которые имеют непосредственное отношение к исследованиям автора.

На странице 61 автор пишет про «...полноразмерную открытую рамку считывания для белковой последовательности AGXT2 (с 244 по 1785 нуклеотид)», полученную из кДНК библиотеки почки человека.

Если это исходно кДНК, то полноразмерная рамка считывания должна начинаться с первого нуклеотида. Просьба прояснить этот вопрос.

На странице 69 (пятая строка) приведено предложение «Наиболее концентрированным считалось кДНК почки».

Это предложение лишнее – очевидно, что исходная кДНК более концентрирована, чем её разведения. Кроме того, ДНК женского рода, и надо писать «концентрированной считалась кДНК почки».

В работе встречаются и другие досадные несогласованности и ошибки, но их мало.

В названии главы 4 «ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ И ЛОКАЛИЗАЦИИ ТРАНСГЕНА В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ МЫШЕЙ ЛИНИИ hAGXT2» (стр. 87) автор вновь путает понятия «локализация трансгена» и «локализация белка». Речь идёт на самом деле об экспрессии трансгенной последовательности в различных тканях и локализации соответствующего белка в клетках.

Замечание к рисунку 29 на странице 102 «Иммуноцитохимическое исследование первичной культуры клеток эндотелия у трансгенных hAGXT2 мышей». Уместно было бы привести рисунок, на котором представлены данные не только для трансгенных, но и для нетрансгенных животных. Только на основании сравнения данных иммуноокрашивания клеток трансгенных и нетрансгенных животных можно сделать вывод, что отсутствует аутофлуоресценция.

Можно отметить, что автор проделал большую и качественную работу. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. В подразделе «Обсуждение результатов» мне бы хотелось увидеть ответ ещё на один вопрос. Автор получил трансгенных мышей, у которых сверхпродуцируется белок AGXT2, который вовлечён в регуляцию

уровня оксида азота. Планируется ли в дальнейшем использовать данную модель для оценки эффектов сверхпродукции белка AGXT2 на патологии, связанные с повышением уровня накопления оксида азота? Если да, то какие конкретно воздействия или модели предполагается использовать?

Выводы сформулированы корректно и не вызывают сомнений. Вместе с тем отмечу, что выводы 2, 3 и 4 по сути представляют собой не обобщение а краткое перечисление результатов.

«Список литературы» оформлен в целом аккуратно. В редких случаях, как например, в ссылках № 75, 91 и 179, не указан год публикации.

### **Заключение**

Диссертационная работа Бурдина Дмитрия Валерьевича «Физиологические и биохимические эффекты сверхэкспрессии аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – «физиология», является самостоятельным и законченным научным исследованием, которое вносит существенный вклад в изучение функциональной роли аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2. Сделанные замечания и перечисленные вопросы ни в коей мере не ставят под сомнение научную ценность проведённого исследования. По актуальности темы, научному и методическому уровню, качеству полученных данных, объёму проделанной работы, научной новизне и практической значимости диссертация Бурдина Дмитрия Валерьевича полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание

ученой степени кандидата биологических наук, а её автор, Бурдин Дмитрий Валерьевич, заслуживает присвоения искомой степени по специальности 03.03.01 – «физиология».

Согласен на включение моих персональных данных в аттестационное дело, размещение в интернете и их дальнейшую обработку.

Заместитель директора по научной работе,  
заведующий лабораторией генетического моделирования болезней  
человека

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Института общей генетики имени Н.И. Вавилова

Российской Академии Наук,

Санкт-Петербургский филиал.

доктор биологических наук

по специальности 03.02.07 – генетика

Галкин Алексей Петрович,

ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3,

Москва, 119991

Тел.: +7-921-773-01-99

E-mail: apgalkin@mail.ru

Подпись руки А.П. Галкина заверяю

Секретарь СПбФ ИОГен РАН, к.б.н.

07.09. 2018

