

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук
Кутузовой Нины Михайловны на диссертационную работу
Гришиной Жанны Валерьевны «Белки, пептиды и ферменты их обмена
в онтогенезе личинок трутней и рабочих пчел», представленную к публичной
защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.04- биохимия.

Актуальность темы.

Регуляция процессов развития организма на конкретном этапе онтогенеза представляет собой одну из актуальных проблем биологии развития. С этой точки зрения, весьма важным представляется исследование молекулярных механизмов регуляции процессов развития у представителей пчелиной семьи, которые обладают не только разным геномом, но и разной продолжительностью жизни. К тому же в последнее время все большую популярность получают исследования биологически-активных веществ, выделенных из продуктов пчеловодства, поскольку они обладают рядом преимуществ по сравнению с синтетическими аналогами. Таким образом, соискатель в своей работе, с одной стороны, затронул фундаментальную проблему изучения закономерностей и механизмов развития пчел на личиночной стадии и роли в них «триады» белки-протеазы-пептиды, а с другой стороны, в работе отражен также прикладной аспект исследований: исследование физиологической активности пептидов, полученных из личинок трутневого расплода.

Исходя из вышесказанного, актуальность диссертационных исследований Ж. В. Гришиной определяется, с одной стороны, необходимостью изучения молекулярных механизмов развития организмов на разных этапах онтогенеза, а с другой стороны, поиском физиологически-активных пептидов, которые в перспективе смогут заменить синтетические препараты в фармакологии, медицине, спорте и сельском хозяйстве.

Научная новизна.

Соискатель в своей диссертационной работе **впервые** охарактеризовал разнообразие и уровень белков и пептидов, а также активность ключевых ферментов их метаболизма на разных этапах развития личинок, причем эти исследования производились в сравнительном аспекте, затрагивая важный вопрос кастовой дифференцировки в пчелиной семье. **Впервые** обнаружены физиологические эффекты ноотропного характера пептидной фракции молекулярной массой до 5 кДа, полученной из личинок трутней.

Теоретическая и практическая значимость.

Исследования, выполненные соискателем, несомненно, имеют как теоретическую, так и практическую значимость. Выявленные закономерности изменения разнообразия и уровня белков, пептидов и активности ферментов их метаболизма у личинок трутней и рабочих пчел в процессе их развития расширяют существующие представления об особенностях молекулярных механизмов развития на определенной стадии у пчел, а также о кастовой дифференцировке механизмов экспрессии белков и генеза регуляторных пептидов. Установленная корреляция между активностью ферментов и уровнем белков и пептидов подтверждает представление о роли каждого из исследуемых ферментов в их метаболизме.

С точки зрения практической значимости, результаты, полученные соискателем по физиологической активности некоторых пептидов личинок трутней, несомненно, послужат важным толчком к дальнейшему выделению и изучению данных пептидов для применения их в ноотропной терапии в медицине, сельском хозяйстве, спорте.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов.

Исследования выполнены по хорошо спланированному плану, структурированы и представляют собой законченную работу. Достоверность результатов данного исследования основана на применении стандартных методик и сертифицированных приборов. Для проверки воспроизводимости результатов, все эксперименты выполнялись в 4-6 параллельных повторах.

Полученные результаты интерпретировали в соответствии с известными литературными данными. Статистическую обработку данных проводили с использованием прикладной программы Microsoft Office Excel 2003, что позволило объективно проанализировать полученные результаты и сделать обоснованные выводы.

Материалы диссертации доложены на всероссийских и международных научно-практических конференциях: г. Пущино 2012, г. Днепропетровск 2015. По теме диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Оценка и содержание диссертации.

Диссертационная работа Гришиной Жанны Валерьевны написана в соответствии с требованиями, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Она состоит из 110 страниц стандартного компьютерного текста, иллюстрирована 29 рисунками, 8 таблицами. Список литературы включает 222 литературных источников. Работа включает 7 разделов: введение, обзор литературы по теме диссертации, материалы и методы исследований, результаты исследования, обсуждение результатов исследования, выводы, практические предложения к применению результатов исследования. Автореферат составлен по материалам диссертации.

Исследования были проведены на кафедре биохимии ФГБОУВП «Пензенский государственный университет» и в лаборатории «Функциональная биохимия мозга» НИИ Фундаментальных и прикладных Исследований г. Пенза с 2012 по 2016 годы.

Объектом исследования служили разновозрастные личинки трутней и рабочих пчел. Фармаколого-физиологические тесты по определению физиологической активности пептидной фракции проводились по стандартным методикам на самцах белых, беспородных крыс.

В разделе диссертации «Введение» автор отразила актуальность темы своих исследований, сформулировала цель и вытекающие из нее задачи, а также основные положения, выносимые на защиту.

В разделе «Обзор литературы» представлены накопленные научные данные по проблеме онтогенеза насекомых, роли регуляторных протеолитических ферментов и пептидов в молекулярных механизмах развития. Соискатель обобщает и систематизирует современные данные, имеющиеся как в отечественных, так и в зарубежных источниках.

В разделе «Материалы и методы исследований» представлены методы биохимических исследований по определению уровня белков и пептидов, по изучению их разнообразия в процессе развития личинок. Приведены также модифицированные методики для определения активности протеаз. Физиологические эффекты пептидной фракции выявлялись в экспериментах на лабораторных животных с использованием стандартных фармаколого-физиологических методик.

Результаты собственных исследований соискатель приводит в разделе «Результаты исследований», здесь отражены данные по изменению количественного содержания белков и пептидов по мере развития личинок, а также по изменению их разнообразия. Приведены данные по изменению активности некоторых протеолитических ферментов метаболизма белков и пептидов, а также результаты по выявлению физиологических эффектов выделенной из личинок трутней пептидной фракции.

Исходя из полученных экспериментальных данных, после их статистической обработки, Жанна Валерьевна в разделе «Обсуждение результатов исследований» приводит аргументированные объяснения выявленным закономерностям. Соискателем выявлены различия в изменении уровня и разнообразия белков и пептидов в процессе развития двух разных типов личинок. Также соискателем установлена закономерность в изменении активности катепсина D и трипсиноподобной протеазы на разных стадиях развития личинок. В экспериментах на лабораторных животных, выявлена ноотропная активность пептидной фракции, полученной из личинок трутней, которая заключается в снижении стрессовых реакций и улучшении процессов памяти.

Выводы.

На основе полученных данных, соискатель формулирует 6 выводов и дает практические рекомендации к использованию результатов своих исследований. Они вытекают из полученных данных опытов, объективны, не противоречат известным литературным данным, их достоверность не вызывает сомнений. К тому же, они дополняют существующие представления о молекулярных механизмах развития насекомых на личиночной стадии и кастовой дифференцировки пчел.

Список литературы оформлен в соответствии с требованиями ГОСТа.

Рекомендации и вопросы по диссертации.

1. Возникает необходимость по идентификации также и других физиологических эффектов полученной фракции пептидов.
2. Необходимо провести секвенирование белков и пептидов, отвечающих за кастовую дифференцировку в пчелиной семье.
3. Чем был обусловлен выбор конкретных протеолитических ферментов?

Заключение.

Считаю, что представленная к публичной защите диссертация Гришиной Жанны Валерьевны «Белки, пептиды и ферменты их обмена в онтогенезе личинок трутней и рабочих пчел» является целостной, завершенной научно-квалификационной работой, самостоятельным научным трудом, имеющим значение как для фундаментальной науки, так и имеющей прикладное значение, обладающей, несомненно, перспективами для дальнейших исследований.

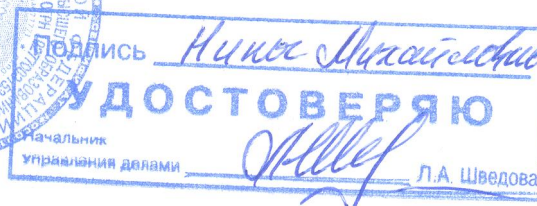
По актуальности, научной новизне и объективности анализа, диссертационная работа соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Гришиной Ж. В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент:

Гражданка Российской Федерации,
доктор биологических наук (03.01.04 – биохимия),
профессор, заведующая кафедрой биохимии,
молекулярной биологии и генетики
ФГБОУ ВО Московский государственный
педагогический университет

Кутузова

Нина Михайловна Кутузова



Нина Михайловна Кутузова

ФГБОУ ВО Московский педагогический государственный университет
(119992, г. Москва, ул. Малая Пироговская, 1), e-mail: biochem_mprgu@mail.ru