

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Зуевой Анастасии Олеговны «Изучение фукоиданаз морской бактерии *Wenylingzhuangia fucanilytica* CZ1127^T и противоопухолевой активности продуктов ферментативного гидролиза фукоиданов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия

Актуальность темы диссертации. Диссертация посвящена одной из актуальных проблем биоорганической химии, связанных с установлением структуры и функциональной активности природных полисахаридов. Фукоиданы являются полисахаридами морского происхождения известными широким спектром биологической активности, в том числе противоопухолевым свойствам. Однако выявление структурных характеристик, обуславливающих противоопухолевую активность фукоиданов, представляется сложной задачей. Применение О-гликозидгидролаз морских бактерий, употребляющих в пищу бурые водоросли, является перспективным способом деполимеризации фукоиданов на регулярные фрагменты, установление структур которых дает информацию о строении исходного фукоидана. Фукоиданазы являются многообещающими инструментами не только для исследования строения фукоиданов, но и для получения фукоолигосахаридов различной структуры, обладающих повышенной противоопухолевой активностью для создания на их основе новых фармакологических препаратов. Актуальность темы диссертации обусловлена необходимостью расширять и углублять знания о функциональной активности и роли гликозидгидролаз и продуктов их каталитической деградации – олигосахаридов различной структуры в живом организме.

Научная новизна полученных результатов. В качестве объектов исследования были выбраны четыре не изученные ранее О-

гликозидгидролазы 107 семейства, которые были подробно описаны в данной работе впервые. В диссертационной работе впервые продемонстрирована топология углеводсвязывающих подсайтов фукоиданаз данного семейства, предопределяющих их тонкую субстратную специфичность. С помощью исследованных ферментов были получены производные с повышенными относительно исходного фукоидана противораковыми свойствами и выявлены значимые закономерности между структурными особенностями фукоиданов и проявляемой ими активностью. На примере фукоиданов из *Fucus distichus sub. evanescens* и *Alaria angusta* были продемонстрированы перспективы применения новых ферментов в качестве инструментов для исследования структур фукоиданов. С помощью исследованных ферментов были получены производные, противораковый эффект которых значительно превосходит активность исходного фукоидана. Исследование канцеропревентивной активности фукоиданов и их производных впервые показало, что определенные структурные элементы фукоиданов, ответственных за их усиленное противораковое действие, может различаться не только по отношению к различным типам раковых клеток, но и зависеть от экзогенных факторов, воздействующих на раковые клетки.

Практическая ценность полученных результатов. Представленные А.О. Зуевой результаты могут иметь практическую значимость, поскольку демонстрируют возможности использования исследованных фукоиданаз в качестве инструментов для изучения структур фукоиданов на конкретных примерах, а также для направленного редактирования структур фукоиданов с целью получения производных с повышенной биологической активностью, что в дальнейшем может быть использовано при создании лекарственных препаратов.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Выводы, сформулированные А.О. Зуевой на основании проведенного диссертационного исследования,

полностью соответствуют полученным результатам, цели и задачам исследования. Об их достоверности свидетельствует разнообразие и объем используемых в работе современных и классических методов и подходов. Научные положения работы обоснованы и прошли апробацию при подготовке публикаций в высокорейтинговых рецензируемых журналах и при их представлении в докладах на научных конференциях.

Структура и объем диссертации. Представленная диссертационная работа изложена в классическом стиле и содержит следующие разделы: Введение (6 страниц), Литературный обзор (42 страницы), Результаты и их обсуждение (64 страницы), Экспериментальную часть (16 страниц), Выводы (1 страница), Заключение (2 страницы) и Список литературы, который включает 225 источников. Диссертация изложена на 172 страницах и содержит 49 рисунков, 7 таблиц и 5 приложений.

Достоинства и недостатки по содержанию, оформлению, общая оценка диссертации

Диссертационная работа Зуевой Анастасии Олеговны в целом заслуживает высокой оценки, характеризуется логичностью и последовательностью подачи материала. Работа изложена в научном стиле, текст хорошо структурирован и проиллюстрирован графиками, диаграммами и рисунками.

Вместе с тем, при изучении автореферата и рукописи диссертации возникли следующие вопросы и замечания:

1. Каково практическое значение создания рекомбинантных фукоиданаз морской бактерии *Wenyingshuangia fucanilytica* CZ1127^T?
2. Поясните, с чем может быть связано различие в температурном оптимуме действия выделенных фукоиданаз FWf1 и FWf2, которые продемонстрировали наибольшую активность при температурах от 24 °С до 40 °С, а фукоиданаз FWf3 и FWf4 при температурах от 40 °С до 50 °С?

3. В исследовании показано, что с помощью фукоиданаз FWf1-4 были получены высокомолекулярные и низкомолекулярные фракции продуктов деполимеризации фукоидана из *Fucus distichus sub. evanescens* (FeF). Выходы высокомолекулярных фракций ВМП и низкомолекулярных фракций НМП составляли 44% и 49% для фукоиданаз FWf1, 51% и 43% для фукоиданаз FWf2, 57% и 26% для фукоиданаз FWf3, 46% и 43% для фукоиданаз FWf4 соответственно. Возможно ли изменить соотношение высокомолекулярных фракций ВМП и низкомолекулярных фракций НМП при деполимеризации фукоидана с помощью фукоиданаз и какие условия для этого необходимы? Насколько воспроизводимы результаты деполимеризации фукоидана FeF с помощью фукоиданаз FWf1-4?
4. В работе указано, что рассчитанное содержание остатков $\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3\text{-})\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow$ составило 21% для FeF, 13% для НМП_FWf1, 9% для НМП_FWf2, 24% для НМП_FWf3, 18% для НМП_FWf4, 19% для ВМП_FWf1, 21% для ВМП_FWf2, 13% для ВМП_FWf3 и 31% для ВМП_FWf4. Поскольку полученные значения содержания остатков $\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3\text{-})\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow$ в производных фукоидана были использованы как дополнительная структурная характеристика при сравнительном изучении противораковой активности, можно ли считать эту структурную единицу определяющей противоопухолевое действие фракций фукоидана?
5. В работе показано, что ни фукоидан FeF, ни его ферментативные производные (НМП_FWf1-4 и ВМП_FWf1-4) не проявляли выраженного цитотоксического эффекта по отношению к нормальным эпидермальным клеткам мыши JB6 Cl41, а также различным линиям раковых клеток (MCF7, MDA-MB-231, DLD-1, HuTu 80 и SK-MEL-28) в диапазоне концентраций 200–800 мкг/мл. Фукоидан 1AaF2 и его высокомолекулярное производное ВМП_1AaF2 не проявляли цитотоксического эффекта по отношению

к клеткам JB6 Cl41 и SK-MEL-28 в концентрациях от 50 до 800 мкг/мл. С чем связан выбор диапазона исследуемых концентраций?

6. При исследовании противоопухолевого действия биологически активных веществ, в том числе фукоиданов и его производных, обычно используют так называемый позитивный контроль – референтный лекарственный препарат. В диссертационной работе Зуевой Анастасии референтный лекарственный препарат не применялся. Проведение подобного сравнительного исследования позволило бы более полно охарактеризовать перспективы создания на основе производных фукоидана противоопухолевых лекарственных средств.
7. Перспективным методом практического применения ферментов является их иммобилизация. По вашему мнению, какой из способов иммобилизации может быть использован в отношении рекомбинантных фукоиданаз морской бактерии *Wenyingshuangia fucanilytica* CZ1127^T?

Заключение. Считаю, что диссертационная работа Зуевой Анастасии Олеговны «Изучение фукоиданаз морской бактерии *Wenyingshuangia fucanilytica* CZ1127^T и противоопухолевой активности продуктов ферментативного гидролиза фукоиданов» полностью соответствует квалификационным критериям, установленным п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., № 842 (в редакции от 01.10.2018 г. № 1168; с изменениями от 20.03.2021 г. № 426; от 11.09.2021 г., № 1539). Диссертация оформлена согласно необходимым и существующим требованиям. Поставленная цель, включая все названные задачи, диссертантом была полностью выполнена. Основные положения и данные автореферата соответствуют таковым, представленным в диссертации. Автор диссертации, Зуева Анастасия Олеговна, заслуживает присуждения ученой

степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 –
биоорганическая химия.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник,
руководитель научно-
исследовательской группы
биохимии и технологии
(гидробионтов) водорослей и
беспозвоночных Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки «Мурманский
морской биологический институт
Российской академии наук»,
кандидат фармацевтических наук
(15.00.01 – технология лекарств и
организация фармацевтического
дела).

E-mail: okaterine@yandex.ru

Тел.: 88152-25-06-96

183038, г. Мурманск, ул.

Владимирская, д. 17, Федеральное
государственное бюджетное
учреждение науки «Мурманский
морской биологический институт
Российской академии наук»
(ММБИ РАН)

«23» ноября 2023 г.

Облучинская Екатерина
Дмитриевна

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ *Е. Д. Облучинской*

УДОСТОВЕРЯЮ

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ ММБИ РАН

К. Х. Н.

Н. Е. КАСАРИНА

