

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.020.01 на базе
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В
СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 17.03.2017 № 3

О присуждении Писаревой Екатерине Евгеньевне, гражданке РФ,
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Анализ мутаций KRAS и BRAF в опухолях» по специальности 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите 02.12.2016 г., протокол № 8, диссертационным советом Д 208.020.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 630559, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Кольцово, АБК, корпус 12, приказ Минобрнауки России от 07.12.2007 г. № 2397-1739, изменения от 20.11.2009 г. № 2136-877/1739, от 02.04.2010 г. № 766-302/1739, от 18.06.2010 г. № 1777-640/1739, от 16.07.2010 г. № 1777-837/1739, от 20.05.2011 г. № 1110-561/1739, от 18.11.2013 г. № 813 прил. 1, от 09.06.2014 № 310/нк, от 15.03.2016 № 326/нк, 18.11.2016 №1478/нк.

Соискатель – Писарева Екатерина Евгеньевна, 1988 года рождения, в 2011 году окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный университет» по специальности «Лечебное дело».

В 2014 году окончила очную аспирантуру в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт

молекулярной биологии и биофизики» по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Работает младшим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики».

Диссертация выполнена в лаборатории генно-инженерных методов исследования Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики».

Научный руководитель - кандидат биологических наук, Шаманин Владимир Александрович, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», лаборатория генно-инженерных методов исследования, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Максимов Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины», лаборатория молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, заведующий лабораторией;

Шевченко Сергей Петрович, Доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница №1», VI онкологическое отделение, заведующий отделением,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, пер. Кооперативный 5, в своем положительном заключении, подписанном Чердынцевой Надеждой Викторовной, доктором биологических наук, профессором, лаборатория

молекулярной онкологии и иммунологии, заведующая лабораторией, заместителем директора по научной работе, и утвержденном Чойнзоновым Евгением Лхамацыреновичем, доктором медицинских наук, профессором, академиком РАН, директором, указали, что диссертация Писаревой Е.Е. является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для молекулярной биологии, соответствует пунктам 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а соискатель достоин присуждения искомой ученой степени по специальности 03.01.03 «Молекулярная биология».

Соискатель имеет 14 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 9 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, 4 наиболее значимые научные статьи с основным участием автора объемом 9, 8, 6 и 10 с. соответственно:

- 1) Sensitive allele-specific real-time PCR test for mutations in BRAF codon V600 in skin melanoma / Pisareva E., Gutkina N, Kovalenko S, Kuehnepfel S, Hartmann A, Heinzerling L, Schneider-Stock R, Lyubchenko L, Shamanin VA. // *Melanoma Res.* – 2014. – V. 4. – P.322-31. doi: 10.1097/CMR.0000000000000090
- 2) Оптимизация метода выделения ДНК из ткани, фиксированной в формалине и заключенной в парафин / Писарева Е. Е., Любченко Л. Н., Коваленко С. П., Шаманин В. А. // *Вестник НГУ.* – 2015. – Т. 13(2). – С. 32-39.
- 3) Анализ мутаций в гене KRAS и BRAF при раке толстой и прямой кишки в российской популяции / Писарева Е.Е., Любченко Л.Н., Коваленко С.П., Шаманин В.А. // *Сибирский онкологический журнал.* – 2016. – Т.15(2) – С. 36-41.
- 4) Клинико-генетическая гетерогенность меланомы кожи / Любченко Л.Н., Черненко П.А., Хатырев С.А., Емельянова М.А., Наседкина Т.В., Писарева

Е.Е., Коваленко С.П., Шаманин В.А. // Злокачественные опухоли. – 2012. – Т. 2. № 2. – С. 81-90.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от доктора биол. наук Кудрявцевой Ю.А. (ФГБНУ «НИИ КПССЗ», зав. отделом экспериментальной и клинической кардиологии) - отзыв положительный с замечанием к формулировке вывода №5 который также можно отнести к новизне исследования; от д-ра мед. наук Рукши Т.Г. (ФГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России, заведующая кафедрой патологической физиологии) - отзыв полностью положительный; от канд. мед. наук Литвинова И.В. (ООО НКЦ ОиН Биотерапия) – отзыв полностью положительный; от канд. мед. наук Пауль Г.А. (ООО «БиоЛинк», врач лабораторной генетики, заведующая лабораторией генодиагностики) – отзыв полностью положительный; канд. мед. наук Козлов В.В. (ГБУЗ НСО НОКОД, заведующий онкологическим отделением № 3) – отзыв полностью положительный.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в области молекулярной биологии и онкологии, большим количеством публикаций в этой области, высоким профессионализмом и согласием на оппонирование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана высокочувствительная методика анализа соматических мутаций KRAS и BRAF в опухолях;

предложены оригинальные идеи для увеличения эффективности методики выделения ДНК из фиксированного опухолевого материала;

доказана пригодность аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени для анализа соматических мутаций KRAS и BRAF в опухолях;

введены новые представления о молекулярно-генетическом профиле рака легкого и карциноида желудочно-кишечного тракта.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения о схожих частотах соматических мутаций KRAS и BRAF при раке толстой и прямой кишки и при меланоме кожи между пациентами в российской и европейской популяциях;

применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр молекулярно-генетических методов исследования, в т.ч. новейшие разработки в области химии олигонуклеотидов;

изложены условия, являющиеся оптимальными для создания высокочувствительных методов анализа на основе ПЦР в режиме реального времени;

раскрыты новые проблемы и противоречия по данным частот соматических мутаций в российской и азиатской популяциях;

изучены факторы, определяющие качество и количество выделяемой из фиксированного материала ДНК;

проведена модернизация существующих методик выделения ДНК для увеличения выхода ДНК и уменьшения концентрации ингибиторов ПЦР.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены методики диагностики мутаций KRAS при раке толстой и прямой кишки и мутаций BRAF при меланоме кожи, о чем свидетельствуют полученные регистрационные удостоверения в качестве изделий медицинского назначения на соответствующие наборы реагентов;

определены пределы аналитической чувствительности таких методов диагностики как секвенирование по Сэнгеру, пиросеквенирование, аллель-специфичная ПЦР в режиме реального времени;

создана эффективная методика выделения ДНК из фиксированного в формалине и заключенного в парафин материала;

представлены протоколы пробоподготовки образцов опухолей к молекулярно-генетическому анализу.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены с использованием сертифицированного оборудования, их воспроизводимость подтверждалась несколькими повторами, а качество - референтными контрольными образцами;

теория анализа соматических мутаций KRAS и BRAF в опухолях построена на известных проверяемых данных и согласуется с экспериментальными данными, опубликованными по теме диссертации;

идея базируется на глубоком анализе экспериментальных данных по чувствительности и специфичности детекции соматических мутаций в опухолях и их соотнесении с данными литературных источников;

использованы данные 164 научных работ для сравнения с таковым, полученными автором при разработке методик и анализе частот мутаций;

установлено совпадение авторских результатов по анализу частот мутаций у российских пациентов с таковыми в работах других авторов для европейской популяции;

использованы биоинформатические методы получения и анализа данных, включая традиционные методы статистической обработки.

Личный вклад соискателя состоит в:

участии на всех этапах научно-исследовательской работы по теме диссертации; непосредственном участии при разработке дизайна ПЦР-тестов для анализа мутаций, а также при подготовке и проведении всех экспериментов с клиническими опухолевыми образцами с целью апробации разработанной методики и определения клинической чувствительности анализа мутаций KRAS и BRAF; личном участии при проверке аналитической чувствительности ПЦР-тестов; участии при анализе опухолевых образцов с помощью всех методов секвенирования и ПЦР в режиме реального времени; личном участии при статистической обработке и интерпретации экспериментальных данных; при подготовке четырех основных публикаций по выполненной работе.

Все работы были сделаны под руководством В.А. Шаманина. Эксперименты по созданию плазмид с мутациями были проведены совместно с Н.И. Гуткиной. Секвенирование образцов ДНК методом Сэнгера были проведены совместно с М.С. Анисименко, сбор опухолевых образцов от пациентов проводился Л.Н. Любченко. Кроме того, часть исследований с использованием метода пиросеквенирования была выполнена с участием профессора Regine Schneider-Stock (Университет Эрланген-Нюрнберг, Германия).

На заседании 17.03.2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Писаревой Е.Е. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 9 докторов наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, биологические науки, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 20, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель

диссертационного совета

Агафонов Александр Петрович

Ученый секретарь

диссертационного совета

Зубавичене Наталья Маратовна

17.03.2017 г.

