

**ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук  
Анисимова Михаила Николаевича  
на тему «Механизмы динамики микротрубочек и её регуляции  
низкомолекулярными ингибиторами»  
по специальности 1.5.2. Биофизика**

Диссертационная работа Анисимова Михаила Николаевича посвящена изучению роли структурных дефектов решетки микротрубочек в инициации спонтанных переходов микротрубочки от фазы катастроф (разборки) к фазе спасения (сборке), механизмам ингибирования спасений и поиску низкомолекулярных ингибиторов роста микротрубочек, представляющих интерес для онкомедицины.

Тубулиновые микротрубочки, будучи компонентом клеточного скелета, являются сложными надбелковыми структурами, которые вместе с моторными белками играют главную роль в перемещении субклеточных единиц в процессе жизнедеятельности клетки, обеспечивая, в частности, точное позиционирование хромосом при ее делении. Поскольку пространственная организация субклеточных единиц определяет жизнеспособность клетки, исследования, проясняющие как именно эта важнейшая биологическая функция, выполняемая микротрубочками и ассоциированными с ними белками, связана с структурными перестройками самих микротрубочек, и можно ли управлять процессом деления клеток влияя на такие перестройки, являются в актуальными не только с фундаментальной, но и с практической точки зрения. Эта тема находится в центре внимания исследователей уже несколько десятилетий, тем не менее, ряд тонких, но важных физических механизмов,

определяющих динамику сборки-разборки микротрубочек, остаются не проясненными, и вместе с этим остаются не в полной мере проясненными и возможности управления процессами деления клеток.

Исследование таких вопросов, в частности, исследование Анисимовым М. Н. структурных дефектов решетки микротрубочек, их роли в инициации фазы спасения и способов ингибирования этой фазы, дополненное методом и практикой скрининга новых низкомолекулярных ингибиторов, представляет несомненный научный и практический интерес и определяет высокую **актуальность** темы диссертационной работы.

**Научная новизна и практическая значимость** диссертационной работы Анисимова М. Н. заключается, прежде всего, в существенном усовершенствовании метода экспериментального изучения динамики сборки-разборки микротрубочек на покровных стеклах, радикально уменьшающего появление артефактных дефектов решетки микротрубочек. Научная новизна содержится и в полученных Анисимовым М. Н. данных о частотах инициации фазы спасения на дефектах решетки, а также экспериментально обоснованной им возможности ингибирования спасений низкомолекулярными соединениями. Важное практическое значение имеет созданный диссертантом оригинальный метод быстрого скрининга низкомолекулярных ингибиторов роста микротрубочек и обнаружение с его помощью новых ингибиторов деления раковых клеток.

Остановимся на самой диссертации Анисимова М. Н. Она изложена на 130 страницах, содержит 37 иллюстраций (графики, диаграммы, схемы) и состоит из вводного раздела с общей характеристикой работы, 3-х глав, заключения, выводов, списка публикаций автора по теме диссертации, благодарностей и списка литературы (114 англоязычных источника).

В *вводном разделе* дана общая характеристика работы, в которой обоснована актуальность темы диссертации, аргументирована научная новизна и практическая значимость результатов исследования, оценена степень разработанности выбранной темы, сформулированы цели и задачи исследований, определены объекты и методы исследований, сформулированы положения, выносимые на защиту, указан личный вклад автора в совместных публикациях и приведен список публикаций автора по теме диссертации.

*Первая глава*, традиционно являющаяся литературным обзором, представляет достаточно широкий набор публикаций по динамике тубулиновых микротрубочек, фокусируя внимание на не вполне проясненной роли дефектов решетки микротрубочек в инициации фазы спасения, а также публикаций, относящихся к низкомолекулярным ингибиторам динамики микротрубочек. Данная глава включает четыре больших раздела, в трех из которых автор последовательно излагает сведения о строении микротрубочек и структурных дефектах, их динамике, методах наблюдения сборки-разборки микротрубочек *in vitro*, роли ГТФ-тубулина в инициации фазы спасения, наконец, механизмах регуляции динамики микротрубочек низкомолекулярными и белковыми модуляторами. Эта часть литературного обзора ориентирована на, условно говоря, «академические» задачи диссертации - исследование структурных дефектов микротрубочек, их взаимодействия с ГТФ-тубулином и их роли в инициации фазы спасения. Четвертый раздел литературного обзора представляет работы по низкомолекулярным модуляторам динамики микротрубочек и ориентирована на, так сказать, «прикладную» часть диссертационного исследования, в которой автор предлагает новый метод быстрого скрининга низкомолекулярных ингибиторов динамики микротрубочек и найденные с его помощью новые соединения,

подавляющие рост раковых клеток. В целом, обзорная глава, сфокусированная непосредственно на публикациях, имеющих прямое отношение к задачам диссертационного исследования, корректно и в достаточной мере отражает накопленные в данной области знания.

*Вторая глава* диссертации посвящена описанию материалов и методов, использованных автором в исследованиях. Она включает 3 раздела, в которых детально и тщательно описаны экспериментальные протоколы и методики, относящиеся к очистке белков, приготовлению стабилизированных микротрубочек, микроскопии микротрубочек, обработке и анализу данных, скринингу низкомолекулярных модуляторов динамику микротрубочек и оценке эффекта подавления роста клеток. Помимо общепринятого классического метода исследования структурных дефектов и фаз спасений микротрубочек на покровных стеклах, в этой главе подробно описана оригинальная авторская методика крепления микротрубочек на микропедесталах, устраняющая вносимые покровным стеклом артефактные структурные дефекты решетки микротрубочек. В этой же главе изложен еще один оригинальный авторский метод – быстрый скрининг лигандов белка тубулина, представляющий несомненный интерес для эффективного поиска ингибиторов деления клеток.

В *третьей главе*, состоящей из 4-х обширных разделов, детально описаны результаты самого диссертационного исследования. Эти результаты составляют две взаимосвязанные части, первая из которых отражает результаты экспериментальных исследований структурных дефектов решетки микротрубочек и частот фаз спасений, проведенных Анисимовым М. Н. как классическим экспериментальным методом, так и методом, усовершенствованным автором диссертации. К этой же части можно отнести и исследования механизмов регуляции фаз спасений.

Вторая часть этой главы, посвященная скринингу новых ингибиторов динамики микротрубочек и их тестированию, в том числе, на раковых клетках и демонстрирует несомненную практическую направленность этих исследований. Изложенные в главе 3 *результаты несомненно демонстрируют обоснованность положений, выносимых автором на защиту, корректность сформулированных в диссертации научных выводов и их новизну.*

Оценивая в целом диссертационную работу Анисимова М. Н., следует сказать, что полученные им данные о структурных дефектах микротрубочек, их роли в механизмах инициации фазы спасения и способах регуляции динамикой микротрубочек через эти механизмы – это определенное достижение, имеющее научную и практическую значимость.

Результаты диссертационной работы Анисимова М. Н. хорошо апробированы. Они опубликованы в 5 статьях, в том числе 3 статьях в высокорейтинговых журналах в рекомендованных изданиях ВАК Минобрнауки РФ, и индексируемых в базах Web of Science, Scopus, RSCI и базе данных РИНЦ, а также представлена в докладах автора на 5-ти международных и российских конференциях. Опубликованные статьи и тезисы докладов на конференциях полностью отражают тематику диссертации.

Автореферат отражает основное содержание диссертации и сделанные по работе выводы.

Диссертация демонстрирует глубокое знание Анисимовым М. Н. актуальной области биофизических исследований, умение формулировать задачи исследования, владение широким спектром современных техник экспериментирования, наконец, способность получать новые научно-значимые результаты и корректно их интерпретировать.

Эти факторы, в совокупности, обеспечивают обоснованность всех выносимых на защиту результатов и выводов. Новизна, оригинальность и корректность представленных в диссертации результатов не вызывает сомнений. Выводы работы соответствуют основному содержанию работы и положениям, выносимым на защиту.

Вместе с очевидными достоинствами диссертации Анисимова М. Н., можно отметить и некоторые ее недостатки.

Начну с несущественных – опечаток и пр. Их практически нет, - разве что замеченная мною опечатка нумерации подраздела 3.2.2. в оглавлении диссертации и упущенные пояснения к величинам, как например, в случае с величиной «Р» в подписи под рис.18.

Некоторым недостатком обзорной главы можно считать то, что содержание части публикаций приведено автором справочно, без заключительного комментария, позволяющего оценить его понимание значения этих работ в данном диссертационном исследовании. Общие соображения на этот счет изложены автором диссертации во введении и главах 2 и 3. Тем не менее, на мой взгляд, в диссертационных обзорах литературы, особенно в тех областях, где имеется трудно обозримое количество работ, и автор отбирает лишь те, из содержания которых задачи самой диссертационной работы и вытекают, такие соображения должны быть приведены.

Еще одно замечание касается той части Главы 3, в которой диссертант сравнивает образование частоты образования дефектов решетки при использовании общепринятого метода крепления микротрубочек на покровном стекле и разработанного им нового метода крепления микротрубочек на микропьедесталах над покровным стеклом. Оказывается, что во втором случае образование структурных дефектов решетки и, соответственно, инициация на них фазы спасения происходит

много реже, чем это представлялось ранее. В результате, автор делает важный для всей работы вывод о том, что появление дефекта решетки микротрубочки и, соответственно, инициация фаз спасения является редким случайным событием, статистически усредненные частотные характеристики которых важны для оценки того, как и какими образом можно управлять динамической нестабильностью микротрубочек. Такие усредненные характеристики в диссертации приведены, причем для обоих методов измерений, однако сама статистика таких событий (массив случайных событий и их распределение), не представлена явно для обоих методик, что не позволяет до конца понять, в какой части выводы автора относительно преимуществ разработанной им новой методики подкреплены количественными оценками, а в какой только качественными.

Приведенные выше замечания являются некоторыми упущениями, но не умаляют научной и практической значимости диссертационного исследования Анисимова М. Н.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М. В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.2. - «Биофизика» (физико-математические науки). Диссертация Анисимова М. Н. полностью удовлетворяет критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Анисимов Михаил Николаевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. - «Биофизика» (физико-математические науки).

Официальный оппонент:

Доктор физико-математических наук, главный научный сотрудник отдела строения вещества Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

Аветисов Владик Аванесович



подпись

“ 19 ” ноября 2024 г.

Контактные данные:

тел.: +7(495)9397227, e-mail: [avetisov@chph.ras.ru](mailto:avetisov@chph.ras.ru)

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

01.04.17-Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества

Адрес места работы:

119334, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4,  
ГБУН Федеральный исследовательский центр химической физики им.  
Н. Н. Семенова РАН, Отдел строения вещества  
Тел.: +7(499)9397227; [avetisov@chph.ras.ru](mailto:avetisov@chph.ras.ru) ;

Подпись сотрудника Аветисова Владика Аванесовича удостоверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук,

к.ф.-м.н. Михалёва Мария Геннадьевна,



“ 19 ” ноября 2024 г.