

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Примака Александры Леонидовны
«Создание культуры immortalized multipotent mesenchymal
stromal cells of human for tasks of regenerative biomedicine»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.1.10 – Биомеханика и биоинженерия

Общая характеристика работы, научная новизна и актуальность исследования, методологическая проработанность, практическая значимость

Автореферат диссертационной работы посвящен актуальной и активно развивающейся области современной науки – регенеративной биомедицине. В работе рассматривается важная проблема создания стабильных клеточных моделей мезенхимных стромальных клеток (МСК), пригодных как для фундаментальных исследований, так и для практического применения. Актуальность исследования не вызывает сомнений, поскольку использование первичных культур МСК сопряжено с рядом существенных ограничений, включая вариабельность результатов, ограниченный пролиферативный потенциал и сложности стандартизации. Предложенный автором подход, основанный на immortalization клеток посредством сверхэкспрессии гена hTERT, направлен на преодоление указанных ограничений, что имеет как теоретическое, так и прикладное значение. Цель работы сформулирована четко и логично, задачи исследования последовательно вытекают из поставленной цели и охватывают как получение клеточных культур, так и их комплексную характеристику, включая анализ секретора и функциональной активности. Научная новизна работы заключается в проведении комплексного исследования влияния сверхэкспрессии hTERT на свойства МСК жировой ткани человека и их секретора. Впервые показано, что полученные культуры сохраняют ключевые свойства первичных клеток, включая морфологию, иммунофенотип, дифференцировочный потенциал и функциональную активность, а также демонстрируют стабильность при длительном культивировании. Особую ценность представляет доказательство сохранности состава и биологической активности секретора при отсутствии трансформирующего потенциала. Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных клеточных культур как стандартизированной модели и как источника биологически активного секретора для разработки биомедицинских продуктов. Представленные результаты имеют перспективы применения в фармакологии и регенеративной медицине. Методический уровень работы является высоким. Автором использован широкий спектр современных методов клеточной и

молекулярной биологии, генной инженерии, биохимии и биоинформатики. Достоверность результатов обеспечивается применением различных подходов, статистической обработкой данных и воспроизводимостью экспериментов. В автореферате логично изложены основные результаты исследования, которые хорошо иллюстрированы и обоснованы. Выводы соответствуют поставленным задачам и полученным данным.

Замечания и вопросы к диссертационному исследованию

Вместе с тем, при прочтении автореферата возникают некоторые вопросы:

1. В первой главе результатов указано, что в ходе работы путем трансдукции лентивирусным вектором pVLT-EF1a-hTERT-puro были получены три независимые культуры immortalized клеток (MCK-TERT) из первичных MCK подкожного жира здоровых доноров. Исходя из данного описания, предполагается, что сравнительный анализ свойств должен проводиться между тремя исходными культурами и тремя их hTERT-экспрессирующими производными. Однако на представленных графиках и рисунках 2-6 в качестве контроля приведены данные только для одной линии пMCK (аббревиатура в тексте не расшифрована). Принимая во внимание высокую межлинейную и междонорскую вариабельность первичного биоматериала, методологически более корректным представляется сравнение каждой из трех модифицированных линий со своим исходным контролем. При расчете количественных показателей для оценки воспроизводимости наблюдаемых фенотипических эффектов можно было бы использовать двухфакторный дисперсионный анализ (Two-Way ANOVA) со взаимодействием, где именно показатель взаимодействия факторов (Interaction) позволил бы объективно ответить на вопрос о стабильности наблюдаемых ответов клеток разных доноров на оверэкспрессию hTERT.
2. Учитывая, что для получения hTERT-экспрессирующих MCK использовалась лентивирусная трансдукция, при которой интеграция трансгена в геном клетки-хозяина происходит хаотично и, соответственно, при каждой новой процедуре трансдукции трансген может попадать в разные места в геноме, хотелось бы более наглядной визуализации стабильности наблюдаемых эффектов, а именно:
 - 2.1. Согласно результатам анализа дифференцировочного потенциала hTERT-экспрессирующих MCK, представленным на рисунке 4, линия MCK-TERT 1 не дифференцировалась ни в адипогенном, ни в хондрогенном направлениях. Однако этот результат никак не отражен и не обсужден в тексте автореферата.
 - 2.2. Результаты анализа чувствительности к гормонам представлены только для линии MCK-TERT2 (рис. 5). Проводился ли подобный анализ для остальных линий?

2.3. Аналогичный вопрос касается анализа стабильности кариотипа, результаты которого также представлены только для одной линии: стабильность кариотипа после лентивирусной трансдукции — для линии МСК-TERT 4 (рис. 6А), стабильность кариотипа при пассировании — для линии МСК-TERT 2 (рис. 6Б).

3. Принимая во внимание, что в диссертационной работе сделан акцент на возможном практическом применении hTERT-экспрессирующих МСК в качестве продуцентов секретома, хотелось бы более развернутого описания и представления результатов этой части. В тексте указано следующее: «По данным протеомного анализа состав секретомов пМСК и МСК-TERT совпал на 94,5%», — однако результаты этого анализа не представлены. Исходя из такого описания, остается не ясным, получены ли эти результаты для одной конкретной линии МСК-TERT или же для пулированных образцов секретома всех трех трансдуцированных линий. Воспроизводились ли результаты, представленные на рисунках 7 и 8, для всех трех линий?

4. В работе делается предположение о возможности использования созданной культуры МСК-TERT как продуцента секретома для решения прикладных задач регенеративной биомедицины. Не могли бы вы пояснить, как предполагается стандартизировать и контролировать получение таких биомедицинских бесклеточных продуктов, учитывая значительную вариабельность секретома между донорами, ненулевую вероятность инсерционного мутагенеза при использовании лентивирусной трансдукции и «случайную» интеграцию лентивирусов в геном клетки-реципиента?

Заключение

Указанные замечания носят дискуссионный характер и не снижают общей высокой оценки выполненной работы.

В целом, диссертационная работа Примак А.Л. является завершенным научным исследованием, обладающим научной новизной, теоретической и практической значимостью. Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено 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.

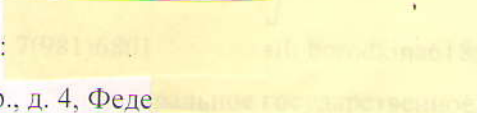
Считаю, что диссертация Примака Александры Леонидовны «Создание культуры иммортализованных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток человека для задач регенеративной биомедицины» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и ее автор, Примака Александра Леонидовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия.

Кандидат биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология,

Ведущий научный сотрудник Лаборатории механизмов клеточного старения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук»

Бородкина Александра Васильевна

«16» июня 2026 г.

Контактные данные: тел.: 7981-6211-888; @gmail.com; 194064, г. Санкт-Петербург, Тихрецкий пр., д. 4, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии Российской академии наук»

Подпись сотрудника Бородкина
удостоверяю:
Ученый секретарь ФГБУН И

М.А. Бердиева