

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии гена Российской академии наук
(ИБГ РАН)

Вавилова ул., 34/5, Москва, 119334

Тел.: (499)135-60-89, (499)135-98-84 Факс: (499)135-41-05

e-mail: info@genebiology.ru; <http://www.genebiology.ru>

ОКПО 00244660 ОГРН 1027739618037 ИНН/ КПП 7736020369/773601001

09.04.2026г. № 12318-41

На №

от



УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГБУН ИБГ РАН
Академик РАН
П.Г. Георгиев

«9» апреля 2026 г.

В диссертационный совет ПДС 0300.025
при Федеральном государственном автономном
образовательном учреждении высшего образования
«Российский университет дружбы народов
им. Патриса Лумумбы»
117198 г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6

ОТЗЫВ

ведущей организации **Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биологии гена Российской академии наук**

на диссертацию Скрябина Глеба Олеговича на тему:

«Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах,
секретируемых клетками злокачественных опухолей»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Актуальность темы выполненной работы

Диссертационная работа Скрябина Г.О. посвящена исследованию состава и функционального значения белков липидных рафтов во внеклеточных везикулах (ВВ), секретируемых клетками злокачественных опухолей, а также выяснению их роли в регуляции

продукции везикул и злокачественного фенотипа опухолевых клеток. Выбранная тема является актуальной и значимой как для фундаментальной онкологии, так и для развивающегося направления исследований внеклеточных везикул.

В последние годы внеклеточные везикулы рассматриваются как один из важнейших регуляторов межклеточной коммуникации, в частности, играя важнейшую роль в опухолевой прогрессии. Одновременно высокий интерес к данным структурам обусловлен перспективами их использования в диагностике, жидкостной биопсии и создании новых терапевтических подходов. Однако развитие этого направления по-прежнему ограничено рядом нерешенных вопросов, касающихся молекулярных механизмов биогенеза везикул, критериев их валидации, выбора надежных маркеров и корректных методов количественного анализа.

Особую актуальность работе придает то, что автор сосредоточился не на анализе уже известных экзосомальных маркеров, а на изучении белков липидных рафтов – флотиллинов, стоматина и кавеолина-1, роль которых в образовании и секреции внеклеточных везикул до настоящего времени была исследована фрагментарно. При этом стоматин в контексте ВВ фактически оставался неизученным. Важным достоинством диссертации является также сочетание фундаментальных задач с научно-методическими: в работе не только исследуются механизмы, связанные с липидными рафтами и секрецией везикул, но и анализируются подходы к количественной оценке внеклеточных везикул из различных биологических источников.

Таким образом, диссертационное исследование Скрябина Г.О. направлено на решение актуальных задач современной экспериментальной онкологии и молекулярной биологии опухоли, а полученные результаты представляют интерес как для изучения патогенеза злокачественных новообразований, так и для развития прикладных технологий на основе внеклеточных везикул.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа содержит ряд новых научных результатов, обладающих несомненной новизной.

Впервые выделены и охарактеризованы в соответствии с современными международными подходами ВВ из желудочного сока и индивидуальных образцов маточных аспиратов. При морфологическом анализе с использованием трансмиссионной и криоэлектронной микроскопии впервые показано наличие в этих биологических жидкостях

везикул атипичной морфологии; при этом для везикул желудочного сока продемонстрирована выраженная морфологическая гетерогенность.

Существенной новизной обладает сравнительный анализ подходов к количественной оценке внеклеточных везикул. Автором показано, что результаты подсчета везикул существенно зависят как от биологического источника материала, так и от выбранного аналитического метода. На этой основе сформулированы конкретные рекомендации по выбору способов количественного анализа для препаратов различного происхождения.

Особо следует отметить результаты, касающиеся рафт-образующих белков. В работе впервые продемонстрировано присутствие стоматина во внеклеточных везикулах, секретлируемых как опухолевыми, так и нормальными клетками, а также во всех исследованных биологических жидкостях. На основании совокупности критериев – универсальности представленности, обогащения во внеклеточных везикулах по сравнению с клетками-продуцентами, корреляции с CD9 и преимущественной представленности во фракции малых везикул – стоматин обоснованно предложен в качестве нового высокоспецифичного маркера экзосом. Одновременно показано, что флотиллины и кавеолин-1 не отвечают требованиям универсальных экзосомальных маркеров, а их уровень варьирует в зависимости от источника везикул и клинического статуса доноров.

Принципиально новыми являются и результаты функциональной части работы. На двух моделях немелкоклеточного рака легкого впервые установлено, что флотиллин-2, стоматин и кавеолин-1 участвуют в регуляции пролиферации и миграционной активности опухолевых клеток, а также в контроле секреции внеклеточных везикул. Показано, что подавление экспрессии каждого из этих белков стимулирует продукцию везикул, причем нокдаун стоматина изменяет размерное распределение в сторону более крупных везикул. Впервые выявлена и регуляторная взаимосвязь между флотиллином-2, стоматином и кавеолином-1: флотиллин-2 охарактеризован как вышестоящий негативный регулятор двух других исследованных белков.

Совокупность полученных результатов позволяет оценить диссертацию как самостоятельное исследование, в котором получены новые данные как в отношении молекулярных механизмов рафт-зависимого биогенеза ВВ, так и в отношении подходов к их валидной характеристике.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Научная значимость диссертационной работы определяется тем, что она существенно расширяет современные представления о роли белков липидных рафтов в регуляции состава, секреции и функциональных свойств внеклеточных везикул. Полученные автором данные дополняют имеющиеся представления о рафт-зависимых механизмах биогенеза экзосом и микровезикул, а также о связи этих процессов с характеристиками злокачественного фенотипа опухолевых клеток.

Работа имеет важное научно-методическое значение. В диссертации не только предложены подходы к выделению внеклеточных везикул из ранее малоизученных клинических источников, но и сформулированы практически значимые рекомендации по выбору методов их количественного анализа. Эти результаты представляют ценность для исследовательских групп, работающих с внеклеточными везикулами в различных биологических средах, поскольку позволяют избежать методических ошибок при интерпретации концентрации и состава везикулярных препаратов.

С практической точки зрения особо значимыми являются результаты, связанные с использованием белков липидных рафтов в качестве молекулярных маркеров. Предложение стоматина как нового высокоспецифичного экзосомального маркера имеет потенциальную ценность для стандартизации исследований в области внеклеточных везикул. Не менее важны данные о повышенной представленности флотиллин-содержащих везикул в биологических жидкостях онкологических больных, что открывает перспективы дальнейшего изучения везикулярного флотиллина как потенциального маркера для жидкостной биопсии.

Практическая значимость работы усиливается и тем, что автором получены стабильные производные линии клеток немелкоклеточного рака легкого с модифицированной экспрессией исследованных белков. Эти модели могут быть использованы в дальнейших исследованиях, направленных на изучение механизмов канцерогенеза, биологии внеклеточных везикул и поиска новых терапевтических мишеней.

В целом результаты диссертации имеют как фундаментальное значение для развития современной онкологии и клеточной биологии, так и выраженный прикладной потенциал в диагностике и разработке новых противоопухолевых подходов.

Обоснованность и достоверность полученных данных.

Достоверность результатов, полученных Скрыбина Г.О. обеспечена широким спектром современных методов молекулярной и клеточной биологии. Выводы полностью основаны на результатах собственных исследований и в полной мере отвечают поставленным задачам.

Основные положения диссертационной работы опубликованы в рецензируемых научных журналах, входящих в Белый список и представлены на российских и международных научных конференциях.

Структура и содержание диссертации. Диссертационная работа Скрябина Г.О. на 148 страницах и состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и Обсуждения, Заключение, Выводы. В работе представлены 30 рисунков и 3 таблицы, в списке литературы приведены 237 ссылок на литературные источники, в том числе самые современные статьи по теме диссертации.

Во **введении** автор обосновывает актуальность исследования, освещает степень разработанности и научную новизну темы диссертационной работы. Автором корректно сформулированы цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту. Данный раздел диссертационного исследования находится в соответствии с выводами работы, сформулированными на основе полученных автором результатов.

Обзор литературы описывает современные знания о роли внеклеточных везикул и механизмах их возникновения, а также о функции липидных рафтов и их роли в образовании экзосом. Раздел цитирует современные статьи по теме и подробно описывает все рассмотренные механизмы. Раздел написан хорошим русским языком и удобен для чтения.

В главе «**Материалы и методы**», описаны методы исследования. В разделе описаны современные методы клеточной и молекулярной биологии, такие как выделение и анализ внеклеточных везикул, молекулярное клонирование, трансгенез, иммуноблоттинг, флуоресцентная микроскопия, анализ миграции и другие. Раздел достаточно подробен для воспроизведения результатов, и показывает высокий уровень диссертанта.

В главе «**Результаты**» вначале автор характеризует внеклеточные везикулы из разных клеточных культур и биологических тканей с помощью ТЭМ и показывает наличие везикул атипичной морфологии в маточной жидкости и желудочном соке. В следующей части работы автор подробно сравнивает характеристики методы анализа внеклеточных везикул – траектории наночастиц, анализ концентрации белка и ацетилхолинэстеразы, и показывает оптимальный метод для каждого источника. Во второй части работы автор анализирует множество маркеров внеклеточных везикул и доказывает что белок липидных рафтов – стоматин является маркером внеклеточных везикул как опухолевых, так и нормальных клеток, в то время как представленность флотиллинов и кавеолина-1 не является универсальным маркером и сильно варьирует в зависимости от источника внеклеточных везикул и

заболевания, однако могут быть рассмотрены в качестве маркеров злокачественных заболеваний.

В третьей части работы анализируется роль стоматина, флотиллина-2 и кавеолина-1 на злокачественный фенотип в моделях немелкоклеточного рака легкого. Автор подавлял экспрессию этих белков в двух моделях заболевания – H1975 и H358 с помощью экспрессии антисмысловых РНК. Для всех трех белков показано, что их подавление статистически достоверно, снижает скорость роста клеток, хотя это снижение не превышает 35%. Гораздо более сильный эффект показан для снижения миграционной активности, где снижение уровня трех белков, особенно флотиллина-2 снижает миграционную активность (до 52% для флотиллина-2). Интересно, что при этом подавление экспрессии этих белков внеклеточных везикул не подавляет их возникновение, а наоборот стимулирует их секрецию, и в случае стоматина увеличивает их размер. В последней части работы автор анализирует взаимное влияние этих белков друг на друга, и показывает что флотиллин-2 является вышестоящим негативным регулятором кавеолина-1 и стоматина, которые, в свою очередь, связаны между собой негативной регуляторной связью.

Заключение и выводы сформулированы грамотно, соответствуют положениям, выносимым на защиту, отражают ключевые результаты и полностью отвечают поставленным задачам и цели.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

1. Представляется целесообразным использовать стоматин в составе панелей маркеров для валидации малых внеклеточных везикул и экзосом в фундаментальных и прикладных исследованиях, связанных с анализом везикулярных препаратов различного происхождения.

2. Методические рекомендации автора по количественной оценке внеклеточных везикул могут быть использованы в научных лабораториях и центрах, работающих с клиническими образцами, в том числе при исследовании плазмы крови, асцитической жидкости, маточных аспиратов и желудочного сока. В частности, полученные данные обосновывают необходимость осторожного использования оценки общего белка в качестве основного метода подсчета везикул в ряде биологических жидкостей и подтверждают целесообразность применения NTA либо комбинации независимых подходов.

3. Результаты, касающиеся повышенной представленности флотиллин-содержащих везикул у онкологических больных, целесообразно использовать как основание для дальнейших исследований везикулярного флотиллина в качестве потенциального диагностического маркера в задачах жидкостной биопсии злокачественных новообразований.

4. Полученные автором клеточные модели с модифицированной экспрессией флотиллина-2, стоматина и кавеолина-1 могут быть рекомендованы для последующих исследований механизмов опухолевой прогрессии, межклеточной коммуникации и рафт-зависимого биогенеза внеклеточных везикул.

5. Результаты диссертационной работы могут быть использованы в образовательном процессе при подготовке специалистов в области онкологии, клеточной биологии, молекулярной биологии и биомедицины, а также при разработке новых научных проектов, посвященных диагностическому и терапевтическому применению внеклеточных везикул.

Замечания по работе

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне и в целом производит весьма благоприятное впечатление. К работе есть несколько вопросов и замечаний. Из замечаний можно отметить некоторые опечатки и несогласованные предложения. Также диссертацию украсила бы схема, иллюстрирующая выявленные регуляторные взаимоотношения исследуемых РОБ. Интересным вопросом для обсуждения является – меняется ли влияние внеклеточных везикул с подавленными флотиллином, кавеолином или стоматином на характеристики клеток-мишеней по сравнению с исходными везикулами? При анализе влияния подавления уровня этих белков на рост и миграцию является ли этот эффект опосредованным ролью этих белков во внеклеточных везикулах или их ролью внутри клетки? Сделанные выше замечания незначительны и не касаются существа работы, а вопросы носят дискуссионный характер.

Заключение

Диссертационное исследование Скрябина Глеба Олеговича на тему «Состав и функциональное значение белков липидных рафтов в экзосомах и микровезикулах, секретируемых клетками злокачественных опухолей» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи современной экспериментальной онкологии, касающиеся биологии внеклеточных везикул, их

молекулярных маркеров и роли рафт-образующих белков в регуляции секреции везикул и злокачественного фенотипа опухолевых клеток. По актуальности темы, объему выполненных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости полученных результатов работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Скрябин Глеб Олегович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Отзыв подготовлен федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом биологии гена Российской академии наук

Отзыв обсужден и одобрен на заседании межлабораторного научного семинара ИБГ РАН 7 апреля 2026 года (протокол № 1).

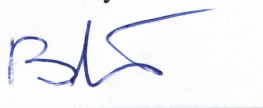
Председательствующий на заседании:

заведующий лабораторией молекулярной онкобиологии

Института биологии гена Российской академии наук

кандидат биологических наук

Татарский Виктор Вячеславович



7.04.2026

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук

Адрес: 119334, город Москва, улица Вавилова, дом 34/5

Телефон: +7 (499) 135-60-89, 135-60-13, 135-14-03

E-mail: info@genebiology.ru

Сайт: <https://www.genebiology.ru/>

ПОДПИСЬ В.В. Татарского

ЗАВЕРЯЮ
ДИРЕКТОРА ИБГ РАН



МАНСУРОВА Г.В.