

Рецензия

на выпускную квалификационную работу магистра кафедры биохимии
Фатеевой Светланы Евгеньевны «Ультрафильтрация и характеристика белковых фракций
сыворотки молока человека»

О неоспоримой пользе материнского молока в науке было известно уже давно, более 100 лет. Грудное молоко содержит самый широкий спектр регулирующих и информационных носителей, меняющийся за время лактации, что очень затрудняет исследования. В материнском молоке человека содержится огромное количество биоактивных веществ, присутствующих, как в виде комплексов, так и в свободном состоянии. Сегодня защитные факторы грудного молока и его состав, влияющий на иммунитет ребенка, находятся под еще более пристальным вниманием отечественных и зарубежных исследователей. Появляется все больше исследований, доказывающих уникальные защитные функции компонентов грудного молока, и все больше открывается компонентов молока, отвечающих за эти его уникальные бактерицидные свойства. Так, совсем недавно, шведские ученые из Университета Лунда и Университета Гётеборга обнаружили в грудном молоке вещество HAMLET (альфа-лактальбумин человека), способное вызывать гибель опухолевых клеток., а еще один, обнаруженный группой ученых из Университета Дьюка² в грудном молоке белок - тенасцин, оказался активен против ВИЧ и по предположениям ученых представляет собой комплекс белка и жирной кислоты.

Таким образом, магистерская работа Светланы Евгеньевны, посвященная изучению комплексов белков материнского молока, включающих антимикробные белки и пептиды, несомненно актуальна и научно значима.

Работа С.Е. Фатеевой является новым этапом исследования, проводимого под руководством доцента кафедры биохимии Л.Е. Леоновой, по поиску и характеристике антимикробных факторов грудного молока человека.

Применив прием ультрафильтрации через мембранны с разными размерами пор, в работе удалось разделить белковые комплексы сыворотки и экстрактов молока по молекулярным массам на 4 фракции (больше 100 кДа, от 50 до 30 кДа, от 30 до 10 кДа и от 10 до 1 кДа). Получены новые, приоритетные данные, доказывающие, что в основном низкомолекулярные антимикробные белки и пептиды содержатся в составе белковых комплексов, находящихся во фракциях с молекулярными массами более 50 и более 100 кДа. Удалось выявить два таких высокомолекулярных белковых комплекса, элюированных при разных процентах ацетонитрилла в ходе ОФ ВЭЖХ, содержащих лактоферрин и некоторые другие белки, и различающиеся по действию на грамположительные и грамотрицательные бактерии.

В работе также получены интересные данные об изменении спектра белков при экстракции их из молока, в условиях кислого рН (до 3) и повышения ионной силы. Это позволило автору сделать предположение о наличии дефенсивов и лизоцима в казеиновой фракции молока.

Все поставленные в работе задачи выполнены. Огромный экспериментальный материал проанализирован, сделаны вытекающие из него выводы, адекватные поставленным задачам, и не вызывающие сомнений.

ВКР построена по традиционному плану и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы (20 стр), материалы и методы исследования (7 стр), результаты исследования и их обсуждение (47 стр), выводы и список литературы. Общий объем 83 страницы плюс приложение (21 стр). Список цитируемой литературы содержит 80 наименований, из которых 76 на английском языке (за последние 5 лет – 17 работ).

Магистерская диссертация хорошо иллюстрирована и документирована, содержит 30 рисунков и 16 таблиц, а также приложение, в котором приведены 11 электрофорограмм белковых фракций, 9 рисунков профилей элюции белков, полученных после ОФ ВЭЖХ, 4 таблицы.

Во введении описана проблема и актуальность настоящего исследования, поставлены цель и задачи, необходимые для ее достижения. В качестве замечания, отмечу, что, по-моему мнению, формулировка первой задачи исследования не очень корректна.

В обзоре литературы охарактеризованы известные к настоящему моменту биологически активные белки и пептиды грудного молока человека и прослежена их роль как факторов иммунологического регулирования и факторов, обуславливающих противоинфекционную защиту. Обзор написан логично, легко читается и свидетельствует о хорошей ориентации Светланы Евгеньевны в современной научной литературе по изучаемой проблеме. Проанализировано, например, 17 статей, опубликованных за последние 5 лет. К сожалению, автор не привела и не обсудила работы, связанные с изучением компонентов материнского молока, и проводимые в нашей стране и, в частности, в Санкт-Петербурге.

Для выполнения поставленных задач в работе использован целый арсенал самых современных методических приемов. Только перечисление их указывает на огромную трудоемкость работы, с чем Светлана Евгеньевна успешно справилась. Анализ состава белков фракций грудного молока, разделенных путем **ультрафильтрации** через мембранны с разным размером пор, был проведен с использованием **двух вариантов аналитического электрофореза** (в кислых и денатурирующих условиях), **дот-иммуноферментного анализа, фракционированием с помощью ОФ ВЭЖХ** (обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией). О наличии **антимикробной активности** судили по действию на рост грамотрицательных (*E.coli*), грамположительных (*L.typhosuisogenes*) бактерий и грибка (*C.albicans*) с использованием метода радиальной диффузии и метода наложения геля. Очень удачно применен метод ультрафильтрации через мембранны с разным размером пор, позволивший разделить белковые комплексы молока на фракции по молекулярным массам.

Получен очень большой экспериментальный материал, который был детально проанализирован и обсужден в разделе «Результаты и обсуждение».

Следует отметить, что ВКР очень аккуратно и с любовью оформлена, но как и все первые работы студентов, все-таки имеет ряд оформительских огражек. В работе встречаются некоторые неудачные выражения, пропущенные запятые. При оформлении списка литературы не все статьи, процитированные в работе, вошли в список, иногда пропущены названия статей.

Однако эти незначительные погрешности не влияют на общее положительное впечатление от оформления работы.

При прочтении работы возникли следующие вопросы:

- Известно, что состав грудного молока несколько отличается в разные периоды лактации. Правомочно ли использование в работе суммарного объема грудного молока, полученного хотя и от одного донора, но за разные периоды лактации?

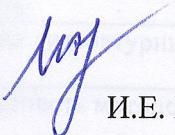
- Есть ли у автора предположения о том, какие именно компоненты в составе выделенных двух белковых комплексов, отвечают за разное бактерицидное действие на использованные в работе бактерии?

Хотелось бы узнать мнение С.Е.Фатеевой о том, могут ли в будущем быть использованы полученные в работе результаты, не только при расширении научных знаний, но и в практическом применении?

В целом, магистерская диссертация Фатеевой Светланы Евгеньевны по научной значимости полученных результатов и их интерпретации, по объему

проведенных исследований, выполненных на высоком методическом уровне, и оформлению несомненно соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам магистров (магистерским диссертациям), и заслуживает оценки «ОТЛИЧНО», а ее автор - присуждения звания Магистра.

Доцент кафедры биохимии, канд.биол.наук


И.Е. Красовская

Июнь 2015 г.