

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Артёма Михайловича Киселёва

«Состав ядерных доменов и динамика слитого белка Y14-Мус в ооцитах жука *Tribolium castaneum*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Тема, выбранная для диссертации, несомненно, актуальна, поскольку она посвящена одной из фундаментальных проблем современной клеточной биологии, связанной с пониманием структурно-функциональной компартментализации ядра эукариотической клетки. В своей работе Артём Михайлович Киселев детально описывает стадии развития ооцитов *T. castaneum*, которые охватывают периоды превителлогенеза и вителлогенеза. С учетом имеющихся данных о геноме данного модельного объекта, эти данные имеют большое значение не только для настоящего исследования, но также закладывают основы для дальнейших исследований, в частности, для поисков подходов для идентификации РНК, транскрибирующейся на поздних этапах формирования кариоферы. Наиболее интересные результаты получены автором в области исследования кариосферы и экстрахромосомных ядерных доменов у *T. castaneum*, так, на основе анализа молекулярного состава выделены три типа экстрахромосомных телец. Получены приоритетные данные о транскрипции хроматина в составе кариосферы на поздних этапах вителлогенеза у этого вида. С использованием методов трансляции *in vivo* экзогенной мРНК, кодирующей химерный белок Y14-Мус, впервые показана динамика локализации Y14 в ядрах ооцитов. Результаты исследования вносят существенный вклад в понимание процессов дифференцировки и созревания ооцитов и расширяют имеющиеся представления о структурной и функциональной организации внутриядерных доменов.

Оформление диссертации, в целом, соответствует требованиям, устанавливаемым Министерством образования и науки Российской Федерации. Текст диссертации написан ясным академическим языком и практически не содержит опечаток. Работа аккуратно оформлена и проиллюстрирована 18 рисунками самого высокого качества. Помимо этого работа содержит 3 таблицы в составе основного текста и дополнена 3 приложениями. Текст рукописи представлен на 105 страницах, из которых 97 содержат основной текст, состоящий из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методики, результатов, обсуждения, выводов и списка литературы.

Краткая характеристика проблемы, которой посвящена диссертация, дается во введении, обосновывается ее актуальность, формулируются цели и задачи исследования, показывается научная новизна и научно-практическая значимость работы, а также дается представление об основных положениях, выносимых на защиту. Цель исследования сформулирована четко и полностью соответствует выполненной работе. Обзор литературы демонстрирует, что автор отлично ориентируется в проблематике избранной области исследования, прекрасно представляет себе современное состояние проблемы. Экспериментальная часть работы изобилует разнообразными методами, причем их описание демонстрирует владение ими автором работы. Достоверность представленных результатов не вызывает сомнения, однако в описании некоторых методов встречаются небольшие неточности. Так, например, на стр. 37 автор утверждает, что «Полимеразу Taq использовали преимущественно для проведения промежуточных контрольных реакций. Все операции, связанные с клонированием, проводили с использованием полимеразы Pfu», а далее ссылается на метод ТА-клонирования в вектор PTZ57R/T (ThermoScientific, США) и на стр. 38 пишет «После проведения ПЦР фрагмент лигировали в вектор PTZ57R/T (ThermoScientific, США) по выступающим на концах дезоксиаденозиновым остаткам амплифицированных фрагментов ДНК (ТА-клонирование) с использованием лигазы T4 по стандартному протоколу (Sambrook, Russel, 2001) ». Остается непонятным, откуда у ПЦР продукта, полученного в результате амплификации с использованием полимеразы Pfu, имеющей 3'-5' экзонуклеазную активность, берутся выступающие концы. Еще одна небрежность допущена в описании комплектации конфокального микроскопа на стр. 41: непонятно, что именно обозначает полупроводниковый Ar-UV (405 нм) лазер, видимо все-таки использовался именно твердотельный полупроводниковый ультрафиолетовый лазер, т.к. аргоновый не может давать излучение с указанным спектром. Переставляется также не очень удачным использование в описании характеристик стадии оогенеза (стр. 45) в качестве ориентира дорсо-вентральную ось будущего зародыша, а не на анимально-вегетативную ось ооцита.

Список цитированной литературы содержит 229 источников, из них 20 на русском языке. Список оформлен аккуратно, единообразно, но не в соответствии с требованиями действующего стандарта составления библиографических ссылок ГОСТ Р 7.0.5-2008. В тексте диссертации автор ссылается, в том числе, на опубликованные собственные данные, что полностью соответствует Положению о порядке присуждения ученых степеней (в редакции Постановления Правительства РФ от 20.06.2011 № 475). По теме исследования опубликованы 3 статьи в рецензируемых российских и международных периодических изданиях, индексируемых наукометрическими базами РИНЦ, и WoS.

Результаты неоднократно апробированы на международных и всероссийских научных конференциях.

Выводы, сделанные на основании исследования, адекватны методам и полученным результатам, а положения, выносимые на защиту, подтверждаются экспериментальными данными. Научная новизна выполненного исследования не вызывает сомнений, т.к. в ходе ее выполнения в практику экспериментальных исследований в области биологии развития, генетики и клеточной биологии успешно введен новый объект с охарактеризованным геномом - малый булавоусый хрущак *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera-Polyphaga: Tenebrionidae). Отработка молекулярно-биологических и биоинформатических подходов в работе с этим объектом имеет практическую значимость в связи с его распространенностью в качестве вредителя продовольственных запасов. Помимо этого, работа вносит существенный вклад в существующие представления о структурно-функциональной компартиментализации ядра ооцита, молекулярном составе и динамике ядерных доменов. Экспериментально установлено и доказано, что кариосфера, обладающая внешней капсулой, может сохранять остаточную транскрипцию на поздних стадиях роста ооцита. Данные о локализации и динамике одного из компонентов комплекса связи экзонов белка Y14 имеют приоритетный характер и способствуют пониманию механизмов специфической транскрипции на поздних стадиях гаметогенеза.

Содержание автореферата полностью соответствует тексту диссертации. Многочисленные цветные иллюстрации помогают в полной мере ознакомиться с полученными результатами.

Диссертационная работа Артёма Михайловича Киселёва «Состав ядерных доменов и динамика слитого белка Y14-Мус в ооцитах жука *Tribolium castaneum*» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора биологических наук, профессора О.И.Подгорной и доктора биологических наук Д.С.Боголюбова. Она содержит решение актуальных задач клеточной биологии, имеющих фундаментальное и научно-практическое значение. В связи с вышеизложенным, указанная работа соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Допент кафедры цитологии и гистологии
Биологического факультета
Санкт-Петербургского государственного университета,
к.б.н. А.Ф.Сайфитдинова

ЗАВЕРЯЮ
06.03.2015

