

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.151.01  
(Д 002.230.01), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО  
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 23.09.2022 г. № 268/446

О присуждении **Силонову Сергею Александровичу** ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация **«Механизм образования и функционирования канонических и ALT-ассоциированных PML-телец»**

**по специальности 1.5.3 - "Молекулярная биология"**

**принята к защите** 10 июня 2022 года (протокол заседания №267/445) диссертационным советом 24.1.151.01 (Д 002.230.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской Академии наук (ИНЦ РАН), 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4. Состав Совета утвержден приказом Минобрнауки РФ №105/нк от 11.04.2012; частичные изм. Совета утверждены Приказом №731/нк от 05.11.2013; частичные изм. Совета утверждены Приказом №155/нк от 09.02.2018; частичные изм. Совета утверждены Приказом №94/нк от 06.02.2019; частичные изм. Совета утверждены Приказом №851/нк от 24.09.2019.

Соискатель **Силонов Сергей Александрович**, «25» декабря 1995 года рождения; в 2018 г. соискатель окончил Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет) с

присуждением степени магистра.

**Диссертацию** на соискание ученой степени кандидата биологических наук «**Механизм образования и функционирования канонических и ALT-ассоциированных PML-телец**» защитил в 2022 году в диссертационном совете 24.1.151.01 (Д 002.230.01), созданном на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук. Работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН) с 2015 г., с февраля 2015 г. по декабрь 2016 г. – лаборант, с января 2017 г. по декабрь 2018 г. – старший лаборант-исследователь, с февраля 2019 г. по настоящее время – младший научный сотрудник Лаборатории структурной динамики, стабильности и фолдинга белков ИНЦ РАН.

**Диссертация** выполнена в порядке прохождения очной аспирантуры Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук (сроки обучения 01.10.2018 — 30.09.2022).

**Диссертация** выполнена в Лаборатории структурной динамики, стабильности и фолдинга белков Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук.

**Научный руководитель** - кандидат биологических наук, **Фонин Александр Владимирович**, старший научный сотрудник Лаборатории структурной динамики, стабильности и фолдинга белков Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:**

**Семисотнов Геннадий Васильевич**, доктор физико-математических наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института

белка Российской академии наук, руководитель группы Экспериментальных исследований и инженерии олигомерных структур,

**Васин Андрей Владимирович**, доктор биологических наук, профессор, и.о. директора Института биомедицинских систем и биотехнологий, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого.

**дали положительные отзывы на диссертацию.**

**Ведущая организация** Федеральный исследовательский центр «**Пушкинский научный центр биологических исследований**» Российской академии наук, Пушкино в своем положительном отзыве, **составленном** Пермяковым Евгением Анатольевичем, доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником Института биологического приборостроения с опытным производством РАН - обособленного подразделения Федерального исследовательского центра «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН» и **утвержденном** и.о. директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Федеральный исследовательский центр "Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук" доктором физико-математических наук Грабарником Павлом Яковлевичем, **указала что** диссертационная работа Силонова Сергея Александровича является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи - выяснение механизмов сборки/разборки, пространственной организации и функционирования канонических РМЛ-телец и РМЛ-телец, ассоциированных с процессом альтернативного удлинения теломер, имеющей существенное значение для молекулярной биологии. Диссертация полностью удовлетворяет требованиям п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено

Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 в действующей редакции), предъявляемым ВАК к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Силонов Сергей Александрович, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

**Соискатель имеет 17 опубликованных работ**, в том числе по теме диссертации опубликовано 5 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 2 работы. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных Силоновым С.А. работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

**Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

1. Fonin, Alexander V.\*, **Sergey A. Silonov\*** (\*equal contribution), Anna S. Fefilova, Olesya V Stepanenko, Anastasia A. Gavrilova, Alexey V Petukhov, Anna E. Romanovich, Anna L. Modina, Tatiana S. Zueva, Evgeniy M. Nedelyaev, Nadejda M. Pleskach, Mirya L. Kuranova, Irina M. Kuznetsova, Vladimir N. Uversky, and Konstantin K. Turoverov. 2022. New Evidence of the Importance of Weak Interactions in the Formation of PML-Bodies. *International Journal of Molecular Sciences* 23(3):1613.

В данной работе проведено исследование роли полноразмерных изоформ белка PML и их С-концевых доменов в формировании PML-телец в присутствии и в отсутствие эндогенного PML. Показана способность полноразмерных ядерных изоформ PML образовывать ядерные жидко-капельные компартменты в отсутствие других изоформ PML, а также способность С-концевых доменов изоформ PML-II и PML-V к включению в состав эндогенных PML-телец. Таким образом, впервые показана роль неспецифических взаимодействий между С-концевыми

доменами изоформ PML в инициации разделения фаз жидкость-жидкость, приводящего к образованию PML-телец.

2. Fonin, Alexander V.\*, **Sergey A. Silonov\*** (\*equal contribution), Olesya G. Shpironok, Iuliia A. Antifeeva, Alexey V. Petukhov, Anna E. Romanovich, Irina M. Kuznetsova, Vladimir N. Uversky, and Konstantin K. Turoverov. 2021. The Role of Non-Specific Interactions in Canonical and ALT-Associated PML-Bodies Formation and Dynamics. *International Journal of Molecular Sciences* 22(11):5821

Работа посвящена изучению роли поливалентных слабых неспецифических взаимодействий на ранних стадиях формирования PML-телец. Проведён биоинформатический анализ последовательностей изоформ PML, показаны особенности локализации и динамики изоформ белка PML в составе PML-телец. Обнаружены различные популяции PML-телец, в том числе впервые показана локализация изоформ PML-VI у ядерной ламины.

#### **На диссертацию и автореферат поступили отзывы:**

1. Заведующего отделом биофотоники Государственного Научного Центра Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) доктора биологических наук, член-корреспондента Российской академии наук **Лукьянова Константина Анатольевича.**

Отзыв положительный, без замечаний.

2. Заведующего лабораторией структурного анализа и инжиниринга мембранных систем, Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), кандидата физико-математических наук **Гущина Ивана Юрьевича.**

Отзыв положительный, имеются не критические замечания:

«...Стоит отметить, что из автореферата не до конца ясно, наблюдаются ли популяции малых и крупных PML-телец в разных клетках или одних и тех же; и если одна клетка содержит только один вид телец, то чем это определяется. Также автореферат содержит незначительные опечатки, в том числе в положениях, выносимых на защиту (шелетрин вместо шелтерина; образование связей ... не являются первопричиной) ...»

3. Руководителя отдела биологических исследований ЗАО «Биокад», кандидата биологических наук **Кожемякиной Натальи Владимировны**. Отзыв положительный, без замечаний.

4. Научного руководителя направления «Генная терапия» Научного центра трансляционной медицины Научно-технологического университета «Сириус», кандидата биологических наук **Карабельского Александра Владимировича**.

Отзыв положительный, имеются не критические замечания:

«...полученные в диссертационной работе экспериментальные данные создали предпосылки для пересмотра принятой в настоящее время модели биогенеза PML-телец. Согласно новой предлагаемой модели, первым этапом формирования PML-телец является фазовое разделение жидкость-жидкость, приводящее к увеличению на несколько порядков концентрации каркасных белков за счет слабых неспецифических взаимодействий, которые обеспечиваются в первую очередь неупорядоченными С-концевыми участками изоформ белка PML. Только после этого этапа концентрирования молекул возможно образование специфических взаимодействий, приводящих к формированию зрелых PML-телец. Однако предложенная модель, несмотря на обнадеживающие результаты на клеточных линиях, однозначно требует проведения дополнительных подтверждающих *in vitro* экспериментов в будущих работах...»

5. Старшего научного сотрудника лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, кандидата химических наук **Бочарова Эдуарда Валерьевича**.

Отзыв положительный, без замечаний.

6. Ведущего научного сотрудника НИО клинической онкологии Института онкологии и гематологии, ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, кандидата медицинских наук **Ломана Елзы Галактионовны**.

Отзыв положительный, без замечаний.

7. Заведующего кафедрой биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии, заведующего лабораторией биолюминесцентных биотехнологий ФГАОУ ВО Сибирского федерального университета, доктора биологических наук, профессора **Кратасюк Валентины Александровны** и старшего научного сотрудника лаборатории **Немцевой Елены Владимировны**.

Отзыв положительный, без замечаний.

**В дискуссии принимали участие:**

1. д.б.н. Скарлато Сергей Орестович;
2. д.б.н. Боголюбов Дмитрий Сергеевич, заместитель председателя Диссертационного совета;
3. д.б.н., проф. Корнилова Елена Сергеевна, председатель.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** высокой квалификацией специалистов в области биофизики белков, клеточной и молекулярной биологии, необходимой для объективной оценки представленных результатов.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработана** новая модель образования PML-телец с участием различных изоформ белка PML, обогащающая современные научные представления о биогенезе PML-телец;

**предложена** оригинальная научная гипотеза, согласно которой первым этапом формирования PML-телец является концентрирование молекул за счёт фазового разделения жидкость-жидкость, в котором основную роль играют С-концевые участки изоформ PML-II и PML-V;

**доказано**, что существенную роль в инициации образования PML-телец играют С-концевые участки изоформ PML-II и PML-V;

**введены** новые представления об образовании канонических PML-телец и PML-телец, ассоциированных с процессом альтернативного удлинения теломер (ALT), а также о роли изоформ белка PML в этих процессах.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**доказана** роль слабых взаимодействий С-концевых участков изоформ белка PML в инициации образования PML-телец, при этом С-концевые домены изоформ PML-II и PML-V способны не только включаться в состав эндогенных PML-телец, но и образовывать динамичные жидко-капельные компартменты в клетках, нокаутных по эндогенному PML. Кроме того, доказана возможность ядерных изоформ PML I–VI формировать компартменты в ядрах клеток, нокаутных по эндогенному белку PML, с морфологией и размерами, близкими к эндогенным PML-тельцам;

**применительно к проблематике диссертации** эффективно использован комплекс современных методов клеточной и молекулярной биологии, в том числе, сканирующая лазерная конфокальная микроскопия и биоинформатический анализ;



**изложены** доказательства наличия нескольких популяций PML-телец, отличающихся морфологией и динамикой обмена с нуклеоплазмой;

**раскрыты** особенности морфологии канонических и ALT-ассоциированных PML-телец, а также особенности динамики обмена с нуклеоплазмой различных полноразмерных изоформ белка PML и их С-концевых участков в разных условиях;

**изучены** морфология PML-телец, динамика обмена с нуклеоплазмой изоформ PML в PML-тельцах в ALT-отрицательной и ALT-положительной клеточной линии, в том числе в ответ на стрессовые условия, вызванные увеличенными концентрациями активных форм кислорода;

**проведена модернизация** имеющихся представлений о механизмах образования канонических и ALT-ассоциированных PML-телец, а также о роли изоформ белка PML в этом процессе.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**разработан и внедрен** в экспериментальную практику оригинальный подход к анализу немембранных органелл с использованием сканирующей лазерной конфокальной микроскопии, позволяющий получать данные об их морфологии и динамике обмена содержимого с нуклеоплазмой;

**определены** перспективы использования данных о механизме образования и функционирования PML-телец в нормальных и aberrантных клеточных состояниях для последующего применения в области исследования немембранных органелл, а также с целью разработки новых терапевтических препаратов;

**создана** теоретическая модель формирования PML-телец, первым этапом которой является концентрирование молекул за счёт фазового

разделения жидкость-жидкость, позволяющая рассматривать эти процессы для таргетной доставки терапевтических препаратов;

**представлены** методические рекомендации, которые могут быть использованы в экспериментальной работе при исследовании немембранных органелл.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**для экспериментальных работ** результаты получены на сертифицированном оборудовании, выбор методов соответствует поставленным в работе задачам и обоснован спецификой исследований, показана воспроизводимость результатов исследования;

**теория** построена на известных, проверяемых данных и фактах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации и по смежным отраслям;

**идея базируется** на анализе данных современной литературы и экспериментальных данных, полученных автором;

**использовано** сравнение авторских данных и данных, полученных ранее при исследовании образования РМЛ-телец и роли изоформ белка РМЛ в этом процессе;

**установлено**, что авторские результаты согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по исследованным тематикам, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным;

**использованы** современные методы сбора и обработки экспериментальных и теоретических данных, представительные выборочные совокупности, адекватные методы статистической обработки полученных результатов.

**Личный вклад соискателя состоит в**

планировании и проведении экспериментальных и теоретических исследований, анализе и обобщении результатов. Апробация и

подготовка основных материалов к публикации осуществлялась при участии автора.

Диссертация, посвященная изучению механизмов сборки/разборки, пространственной организации и функционирования канонических РМЛ-телец и РМЛ-телец, ассоциированных с процессом альтернативного удлинения теломер, является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием в области молекулярной биологии, которое содержит решение научной задачи, имеющей большое значение для понимания механизма образования РМЛ-телец, роли различных изоформ белка РМЛ в этом процессе, а также выявлении разницы в формировании и функционировании канонических и ALT-ассоциированных РМЛ-телец.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных С.А. Силоновым работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Диссертационная работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года) по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания и вопросы дискуссионного характера, касающиеся методологических особенностей и интерпретации результатов, а также о необходимости дальнейшего изучения функционирования немембранных органелл.

Соискатель Силонов С.А. ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы, согласился с замечаниями и привел собственную аргументацию относительно необходимости и возможностей дальнейшего развития работы.

На заседании 23.09.2022 г. диссертационный совет принял решение за новые научно обоснованные представленные результаты работы и за решение научной задачи, имеющей значение для развития современной молекулярной биологии и биологии немембранных органелл (биомолекулярных конденсатов) **присудить Силонову Сергею Александровичу** ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 18, «против» - нет.

Председатель Диссертационного совета

24.1.151.01 (Д 002.230.01)

д.б.н., проф.

Корнилова Елена Сергеевна

Ученый секретарь Диссертационного совета

24.1.151.01 (Д 002.230.01)

д.б.н.

Мартынова Марина Георгиевна

23.09.2022