

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

Д 001.004.01. НА БАЗЕ ФГБНУ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 27 июня 2019 г. №8

О присуждении Лаврентьевой Елене Андреевне, гражданке Российской
Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярно-биологическая характеристика
предшественников ядрышек в ранних зародышах мыши и особенности их
движения на стадии зиготы» по специальности 03.03.04 – клеточная
биология, цитология, гистология принята к защите 25 апреля 2019 года
протокол №4 диссертационным советом Д 001.004.01 на базе ФГБНУ
«Научно-исследовательский институт морфологии человека» (117418, г.
Москва, ул. Цюрупы, дом 3), сайт организации www.morfolhum.ru созданном
в соответствии с приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11 апреля 2012
г.

Соискатель Лаврентьева Елена Андреевна, 1990 года рождения, в 2013
году окончила Биологический факультет Московского Государственного
Университета имени М.В. Ломоносова. С 2013 по 2017 гг. обучалась в очной
аспирантуре факультета биоинженерии и биоинформатики Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова» по специальности 03.03.04 клеточная биология, цитология,
гистология. В настоящее время соискатель работает в должности младшего
научного сотрудника в лаборатории функциональной организации

клеточного ядра Отдела функционирования живых систем Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории функциональной организации клеточного ядра Отдела функционирования живых систем ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель: **Зацепина Ольга Владимировна**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник с выполнением обязанностей руководителя лаборатории функциональной организации клеточного ядра Отдела функционирования живых систем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты: **1. Попенко Владимир Иванович**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук.

2. Семенова Мария Львовна, доктор биологических наук, профессор кафедры эмбриологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, дала положительное заключение, подписанное заведующим лабораторией цитогенетики Федерального государственного бюджетного

учреждения науки «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» Российской академии наук, доктором биологических наук, профессором О.Л. Коломиец. В заключении ведущей организации указано, что диссертация Лаврентьевой Елены Андреевны соответствует требованиям п.9-14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 в редакции от 28.08.2017 г. №1024, 01.10.2018 1168, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работах, из них 3 статьи в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук, 1 статья, не входящая в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, 6 публикаций – в материалах всероссийских и международных конференций, 1 патент на изобретение. Все публикации написаны в соавторстве. В 3-х статьях соискатель является первым автором, общий объем публикаций - 63 страницы.

Наиболее значимые работы:

1. Lavrentyeva E., Shishova K., Kagarlitsky G., Zatsepina O. Localisation of RNAs and proteins in nucleolar precursor bodies of early mouse embryos //Reproduction, Fertility and Development. – 2017. – V. 29. – №. 3. – P. 509-520. doi: 10.1071/RD15200.
2. Шишова К.В., Лаврентьева Е.А., Хамидуллина А.И., Зацепина О.В. Положение ядра в предовуляторных ооцитах мыши с разной конфигурацией хроматина //Онтогенез.– 2016. – Т. 47. – №. 6. – С. 331-338.

3. Лаврентьева Е.А., Шишова К.В., Зацепина О. В. Различия в характере движения ядер GV ооцитов мыши с разной конфигурацией хроматина //Известия РАН. Серия биологическая. – 2019. – №. 4. – С. 358-367. doi: 10.1134/S000233291904009X
4. Lavrentyeva E.A., Shishova K.V., Mikoyan V.S., Stanishevsky Y.M., Zatsepina O.V. Immunolabeling of “Nucleoli” in Mouse Fully-Grown Oocytes and One-Cell Embryos is Dependent on Upstream Molecular Fixatives //International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB). – 2017.– V. 5. –№. 7. – P. 69-78. doi: 10.20431/2349-0365.0507010

Недостовверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в работе отсутствуют.

На автореферат поступили отзывы: от доктора биологических наук, главного научного сотрудника лаборатории проблем регенерации Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН Александровой М. А., от кандидата биологических наук, доцента кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» Кисуриной-Евгеньевой О.П., от доктора биологических наук, профессора лаборатории молекулярной биологии, ФГБНУ «Медико-генетического научный центр» Вейко Н.Н.

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат. Отзывы содержат информацию об актуальности настоящего исследования, новизне полученных результатов и значимости их для науки и практики. Отмечено, что диссертационная работа выполнена на актуальную тему на высоком

научном уровне, выводы диссертации достоверны и полностью отражают поставленные задачи.

Выбор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» Российской академии наук в качестве ведущего учреждения обоснован тем, что в лаборатории цитогенетики в течение многих лет изучаются особенности молекулярных и генетических механизмов мейоза, в том числе на модели мыши и человека, исследуется структура и молекулярная организация хроматина, разрабатываются методы оценки хромосомных нарушений в мейозе. Выбор оппонентов обоснован тем, что: **Семенова Мария Львовна**, доктор биологических наук, профессор кафедры эмбриологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» является одним из ведущих специалистов в области оогенеза и раннего преимплантационного эмбриогенеза млекопитающих; **Попенко Владимир Иванович**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» Российской академии наук является ключевым специалистом в области изучения особенностей молекулярного состава ядрышек и структуры хроматина.

Диссертационный совет отмечает, что на основании проведенных соискателем исследований, **разработана** научная идея, которая дополняет и систематизирует современные представления о молекулярном составе предшественников ядрышек в ранних эмбрионах мыши; **предложен** дополнительный критерий компетентности предовуляторных ооцитов к созреванию, которым служит подвижность ядра; **доказано**, что

предшественники ядрышек зигот и ядрышко-подобные тельца предовуляторных ооцитов способны к слиянию.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что доказаны следующие положения: предшественники ядрышек зигот мыши содержат белки, но обеднены РНК, в предшественниках ядрышек зигот мыши выявлены белки ядрышка, участвующие в раннем (фибрилларин) и позднем процессинге рРНК (NPM1, нуклеолин). В предшественниках ядрышек зигот не выявлен транскрипционный фактор РНК полимеразы I UBF и рибосомные белки RPL26 и RPS10. Показано, что предшественники ядрышек зигот мыши содержат только следовые количества материнской 28S рРНК. Новосинтезированная рРНК появляется, начиная со стадии двух бластомеров, сначала на периферии предшественников ядрышек, а затем к стадии поздней морулы – бластоцисты, она распределяется по всему предшественнику. Показано, что предшественники ядрышек в зиготах и ядрышко-подобные тельца в предовуляторных ооцитах мыши способны к слиянию.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих классических и современных методов исследования. Изучение молекулярного состава предшественников ядрышек в ранних зародышах мыши и особенностей их движения на стадии зиготы выполнено на широко используемых в лабораторных исследованиях мышцах линии C57Bl/6. Для решения поставленных задач в работе использован комплекс современных методов: культивирование фибробластов NIH/3T3 (использовали для контроля специфичности антител и FISH-зондов), эмбрионов и ооцитов, прижизненные наблюдения за ооцитами и зиготами методом цейтраферной видеосъемки, методы цито- и иммуноцитохимии, метод флуоресцентной гибридизации *in situ*, конфокальная сканирующая лазерная микроскопия. Проведено обобщение, анализ и адекватная статистическая обработка данных, **изложены** экспериментальные доказательства того, что предшественники ядрышек

зигот мыши служат хранилищем унаследованных от GV ооцитов "спящих" ядрышковых белков: фибрилларина, NPM1/B23 и C23/нуклеолина, а также 28S рРНК, приведены доказательства слияния предшественников ядрышек зигот мыши.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что полученные в работе данные могут быть использованы при планировании и проведении исследований, посвященных изучению молекулярного состава предшественников ядрышек зародышей и особенностей их движения у человека и других лабораторных животных. Результаты работы целесообразно использовать при оценке качества ооцитов человека в клиниках репродуктивной медицины. **Оценка достоверности результатов работы выявила, что** исследование выполнено на **достаточном** количестве эмбрионов и ооцитов: около 500 эмбрионов и 334 предовуляторных ооцита. Результаты получены на сертифицированном оборудовании, использованы современные приборы и методы анализа: фотографии фиксированных эмбрионов получали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM510 DuoScanMETA (CarlZeiss, Германия), прижизненную видеосъемку осуществляли при температуре 37°C в увлажнённой атмосфере с концентрацией CO₂ 5% с помощью инвертированного микроскопа Axio Observer (Carl Zeiss, Германия) и CCD камеры Hamamatsu (Hamamatsu, Япония), определение средних радиусов, а также центров ядер и ооцитов производили с использованием программных обеспечений ImageJ1.47 (NIH, США) и LSM Image Browser (Carl Zeiss, США), статистическую обработку результатов производили с помощью Microsoft Office Excel 2007. **Теоретическое обоснование** исследования построено на основе детального изучения данных других авторов об общей морфологии, особенностях динамики и молекулярном составе предшественников ядрышек в ранних зародышах мыши; **идея исследования**

базируется на основании экспериментальных данных о структурно-функциональных изменениях предшественников ядрышек эмбрионов в течение раннего преимплантационного развития у мышей; **использовано сравнение** собственных данных и результатов, полученных ранее другими исследователями по тематике, посвященной изучению молекулярного состава предшественников ядрышек в преимплантационных эмбрионах мыши; с помощью **оптимизированных методик** установлено, что в состав предшественников ядрышек входят белки ядрышка, являющиеся маркерами основных стадий биогенеза рибосом, присутствует следовое количество зрелой 28SpPHK, что **не было показано ранее** с использованием **стандартных протоколов** подготовки эмбрионов для микроскопического исследования; **установлено совпадение части полученных данных с данными литературы**, представленными в независимых источниках по изучаемой тематике: в частности об уменьшении числа предшественников ядрышек на пронуклеус в зиготе, в настоящей работе доказано, что это явление связано с их слиянием, **использованы** широко применяемые в экспериментальных исследованиях лабораторные мыши линии C57Bl/6, репрезентативные по числу получаемых эмбрионов и ооцитов, а также современные методики сбора и анализа полученных результатов.

Личное вклад соискателя состоит в анализе научной литературы, разработке экспериментальной части, получении и обработке результатов, подготовке публикаций, написании текста диссертации.

На заседании 27 июня 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Лаврентьевой Е.А. ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек из них 6 докторов наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология из 21 человека, входящего в

