

УТВЕРЖДАЮ
проректор по научной работе
Санкт-Петербургского
государственного университета

д.х.н. С.Н.Туник



25 января 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущего учреждения

о диссертации **Ахметовой Катарины Артемовны**

«Роль белка Peanut и его функциональных доменов в клеточных процессах у *Drosophila melanogaster*», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность работы

Диссертационная работа К.А.Ахметовой посвящена изучению роли белка Peanut, относящегося к классу септинов, в различных клеточных процессах, что определяется способностью септинов взаимодействовать между собой с формированием гетероолигомерных комплексов. Такие комплексы способны к полимеризации с образованием филаментов. Филаментозная структура и взаимодействие с мембранами клетки позволила рассматривать септины в качестве цитоскелетных элементов клетки, наряду с микротрубочками, актиновыми филаментами и промежуточными филаментами.

Септины являются эволюционно консервативным классом белков, поэтому изучение их функции у модельного объекта - *Drosophila melanogaster* важно для понимания гомологичных белков у млекопитающих, включая

человека. Это определяет актуальность работы и ее общебиологическую значимость.

Характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа К.А.Ахметовой написана по традиционному плану и состоит из традиционных разделов: введения, списка сокращений, обзора литературы, материалов и методов, результатов, изложенных в трех главах, обсуждения, заключения и выводов. Список литературы включает 143 источника. В работе представлены микрофотографии очень хорошего качества.

Введение обосновывает цель диссертационной работы, которая заключается в изучении одного из септинов *D.melanogaster* - белка Peanut, а также его функциональных доменов, определяющих основные функции этого белка.

В пяти задачах, сформулированных в работе, отражаются подходы, используемые для достижения цели исследования.

Прежде всего необходимо было получить инструмент, позволяющий регулировать экспрессию гена *pnut* в соматических или генеративных клетках, чтобы понять роль этого белка как в процессах жизнеобеспечения, так и в осуществлении репродуктивных функций. Нужно было сконструировать плазмиду, позволяющую создавать трансгенные линии дрозофилы с регулируемым подавлением экспрессии гена *pnut*. Учитывая летальный эффект гомозиготности по нулевому аллелю гена *pnut* и многообразие клеточных процессов, в которых участвуют септины, такой подход является несомненно перспективным и плодотворным.

Обзор литературы, который состоит из пяти частей и завершается заключением. Он соответствует теме диссертации.

Использование мутантов с известными нарушениями отдельных функциональных доменов белка Pnut является несомненным достоинством

диссертационной работы. Впечатляет количество разнообразных линий, в том числе трансгенных, позволяющих управлять экспрессией гена *pnut* в зависимости от решаемых задач.

Глава "Результаты" свидетельствует о том, что автор выполнил большой объем работы и продемонстрировал свободное владение различными методами. В главе "Обсуждение" К.А.Ахметова сопоставляет полученные ею результаты с результатами других исследователей и формулирует гипотезы, позволяющие объяснить описанные эффекты.

Новизна исследования и наиболее существенные результаты

Автором впервые показано, что ген важен для сперматогенеза дрозофилы, и снижение уровня экспрессии гена *pnut* в клетках семенников приводит к нарушению подвижности сперматозоидов. Исходя из представлений о преимущественной роли септинов в цитокинезе, можно было ожидать, что нарушения подвижности сперматозоидов являются следствием аномалий синцития, блокирующих стадию индивидуализации. На электронных микрофотографиях это выглядит как несколько аксоном и митохондриальных производных, окруженных одной мембраной. Отсутствие ярко выраженных дефектов аксоном и митохондриальных производных на заключительных этапах спермиогенеза с подавленной экспрессией гена *pnut* в семенниках, вызвало необходимость поиска других причин неподвижности сперматозоидов. Нарушения были выявлены в структуре базального тельца и центриольного придатка. Этот результат представляет особый интерес, поскольку роль центриольного придатка в формировании мужской фертильности является мало изученной.

Значимость результатов, полученных в работе

Сконструированная автором плаزمида *pUASP-W*, позволяющая изучать функции генов как в генеративных, так и в соматических клетках, путем подавления экспрессии этих генов методом РНК-интерференции, может быть использована для решения широкого круга задач.

Впервые показано, что снижение уровня экспрессии гена в семенниках приводит к стерильности самцов, что важно для понимания причин мужского бесплодия. О специализации различных септинов свидетельствует очень важный результат, полученный в работе, свидетельствующий о том, что в яичниках снижение уровня экспрессии гена *pnut* преимущественно нарушает деления соматических клеток.

Многообразие использованных в работе методов и подходов при изучении функций отдельных доменов белка Pnut, позволили показать, что мутации, приводящие к нарушению ГТФазного домена белка Pnut, препятствуют полимеризации септиновых комплексов при формировании септиновых филаментов, а делеции, приводящие к отсутствию С-концевой части белка, нарушают формирование септинового комплекса. Это несомненно весомый вклад в понимание структурно функциональной организации исследуемого белка Pnut, имеющий общебиологическое значение.

Замечания по диссертационной работе

К разделу 3.2. Влияние продукта гена *pnut* на деления соматических клеток.

При анализе митозов в клетках нервных ганглиев личинок дрозофилы определяли соотношение клеток, находящихся на стадиях: прометафаза, метафаза. начало анафазы, анафаза. Такой подход позволяет оценить лишь **относительную** продолжительность каждой из названных фаз митоза, но не их абсолютную длительность. Скорее всего по этой причине "удлинение стадии

ранней анафазы" у гомозигот по нулевому аллелю гена *pnut*, отмеченное автором (стр. 53), противоречит результатам, представленным в таблице 5.

Общее замечание к рисункам.

В работе представлены микрофотографии очень хорошего качества, но подписи к рисункам в отдельных случаях слишком краткие. Они нуждаются в **пояснениях** автора, обращающих внимание на отличия или наоборот, сходство опытных (или мутантных) и контрольных вариантов. Например, в подписях к рисункам 18, 19, 22, а на Рис. 6.2. нет пояснений к стрелкам (Г, Д*), а на самом рисунке хотелось бы видеть стрелку для Е*.

Рис.25 называется нарушения сперматогенеза и оогенеза у мутантов..., а представлены только семенники.

В работе есть неудачные выражения, например:

"за счет **транскрипции сплайсированных вариантов**" (стр.15);

"**Кариотипирование этих пациентов выявило 8 однонуклеотидных полиморфизмов** в локусе SEPT12" (стр.31);

"на сегодняшних дней", "в человеческих клетках" (стр.37);

"1.7 **килобаз**" (стр.41) вместо 1,7 т.п.н. или т.п.о.; на рис.17 "т." пропущено и получается, что промотор имеет длину 1,7 п.н.

"литературные данные" вместо данных литературы

"На **Рис. 23Б** представлены в одном масштабе **слева** зрелые яйцеклетки с нормальной морфологией, а **слева** – мутантные по *FLAG-pnut(1-427)*, короткие круглые, с аномальными дорзальными выростами (стрелка)". В этой фразе, по-видимому, речь идет о яйцах дрозофилы, и второе "слева", на самом деле означает **справа**. Кроме того, правильное было бы давать обозначение каждому рисунку.

Хочется обратить внимание автора на злоупотребление возвратными формами глаголов: линии использовались, трансформация проводилась, приготовление препаратов проводилось, окраска проводилась и т.д., а также

глаголов в прошедшем времени при изложении результатов работы (например, стр. 75).

Перечисленные замечания в основном имеют редакторский характер.

Рекомендации к использованию результатов диссертационной работы

Полученные автором результаты могут быть использованы в курсах лекций по генетике и развития животных на биологических факультетах высших учебных заведений, а также в исследованиях, посвященных изучению генетических причин мужского бесплодия.

Автореферат К.А.Ахметовой соответствует основным положениям диссертации и адекватно отражает ее содержание. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в реферируемых журналах и 1 статья принята к печати. Результаты, полученные в работе, были представлены на Международных конференциях.

Заключение

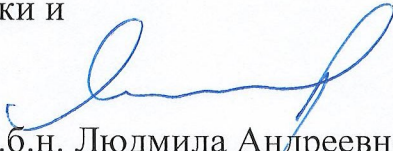
Диссертационная работа К.А.Ахметовой «Роль белка Peanut и его функциональных доменов в клеточных процессах у *Drosophila melanogaster*», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является законченным научным исследованием посвященным изучению роли эволюционно консервативного белка Peanut в разнообразных клеточных процессах у модельного объекта - *Drosophila melanogaster*. В работе представлены новые результаты, имеющие теоретическую значимость для понимания функции исследуемых белков не только у дрозофилы, но и у млекопитающих, включая человека.

Результаты получены с помощью современных методов исследования на достаточном материале и хорошо проиллюстрированы. Выводы работы обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

Все это позволяет заключить, что по актуальности проблемы, методическому уровню, объему представленного материала и научной новизне полученных результатов исследование К.А.Ахметовой соответствует требованиям п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присвоения искомой степени по специальности 03.02.07 - генетика.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании кафедры генетики и биотехнологии протокол № 9 от 25 января 2016 г.

Отзыв составлен профессором кафедры генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета


д.б.н. Людмила Андреевна Мамон

25 января 2016 г.

Сведения о составителе отзыва:

Мамон Людмила Андреевна - доктор биологических наук по специальностям 03.02.07 - генетика и 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология, профессор кафедры генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета, звание - старший научный сотрудник, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, тел. (812)328-15-90, mamon@lm2010.spb.edu

Подпись руки профессора Л.А. Мамон
удостоверенный
Заместитель
глав
кадр
К. Корольская

