

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И
ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 17 ноября 2021 г. № 26

О присуждении Бобровских Маргарите Александровне

(в девичестве Ереминой М.А.) (гражданка РФ)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Бобровских М.А. «Влияние кратковременного теплового стресса на экспрессию генов инсулинового сигнального каскада и углеводно-жировой обмен у *Drosophila melanogaster*» по специальности 1.5.7. – генетика, принята к защите 14.09.2021 г, протокол №19, Диссертационным советом 24.1.239.01 (Д 003.011.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет 24.1.239.01 (Д 003.011.01) утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Бобровских Маргарита Александровна, 30 июня 1991 года рождения, в 2015 году окончила Биологический факультет Алтайского государственного университета, с присуждением степени магистра по направлению подготовки «биология». В 2019 году окончила очную аспирантуру ИЦиГ СО РАН по направлению подготовки «06.06.01 Биологические науки». В настоящее время работает младшим научным сотрудником в ИЦиГ СО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории генетики стресса ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель – доктор биологических наук, Грунтенко Наталия Евгеньевна, заведующий лабораторией генетики стресса Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Глунов Виктор Вячеславович**, чл.-корр. РАН, д.б.н., профессор, директор Института систематики и экологии животных СО РАН, зав. лабораторией патологии насекомых ФГБУН Института систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск.

2. **Никитина Екатерина Александровна**, д.б.н., доцент, зав. кафедрой анатомии и физиологии человека и животных Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», г. Санкт-Петербург.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург. В своём положительном отзыве, подписанном старшим научным сотрудником, доктором биологических наук Людмилой Андреевной Мамон, профессором кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ и утверждённом и.о. проректора по научной работе СПбГУ Ярмош А.С., указала, что «Диссертационная работа Бобровских М.А. (в девичестве Ереминой М.А.) «Влияние кратковременного теплового стресса на экспрессию генов инсулинового сигнального каскада и углеводно-жировой обмен у *Drosophila melanogaster*» 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 присуждения искомой степени по специальности: 1.5.7 – генетика.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Санкт-Петербургского государственного университета" протокол № 65 от 12 октября 2021 г.»

Соискатель имеет всего 16 опубликованных работ, все по теме диссертации, общим объемом 49 страниц, из них в рецензируемых научных изданиях (Wos, Scopus) опубликовано 8 работ и 8 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций. Во всех опубликованных работах личный вклад автора был определяющий. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Основные публикации по теме диссертации:

1. Андрееenkova O.B., **Бобровских М.А. (Еремина М.А.)**, Грунтенко Н.Е., Раушенбах И.Ю. Влияние теплового стресса на экспрессию генов инсулиноподобных белков DILP2 и DILP3 у имаго *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 2018. – Т.54. № 3. – С. 366-368. (Scopus)

2. Karpova E.K., **Bobrovskikh M.A. (Eremina M.A.)**, Pirozhkova D.S., Gruntenko N.E. Stress-related hormones affect carbohydrate metabolism in *Drosophila* females // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. – 2019. – Vol.101(1), e21540. (Scopus, WOS).

3. **Бобровских М.А. (Еремина М.А.)**, Карпова Е.К., Раушенбах И.Ю., Пирожкова Д.С., Андрееenkova O.B., Грунтенко Н.Е. Влияние мутаций генов инсулинового сигнального каскада на изменение уровня углеводов у самок *Drosophila melanogaster* при тепловом стрессе // Генетика. – 2019. – Т. 55. – № 4. – С. 485-488. (Scopus).

4. **Бобровских М.А. (Еремина М.А.)**, Меньшанов П.Н., Шишкина О.Д., Грунтенко Н.Е. Транскрипционный фактор dFOXO регулирует экспрессию генов инсулинового сигнального каскада и содержание липидов при тепловом стрессе у *Drosophila melanogaster* // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 25. – № 5. – С. 465-471. (Scopus).

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

1) Брагина Ю.В. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории сравнительной генетики поведения ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург.

2) Жуковская М.А. - к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории сравнительной физиологии сенсорных систем ФГБУН

Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, г. Санкт-Петербург.

3) Саранцева С.В. - д.б.н., заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией экспериментальной и прикладной генетики НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, г. Гатчина.

4) Алексеев А.А. Д.Н. - к.б.н., старший научный сотрудник Института химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН (ИХГК СО РАН), г. Новосибирск.

5) Воронцова Ю.Г. к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических процессов развития ФГБУН Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН), г. Москва.

«1. Почему в работе использовали только самок дрозофил? Проводились ли эксперименты по изучению влияния кратковременного теплового шока на самцах? 2. В качестве референсного гена для количественного анализа ПЦР в реальном времени использовался ген *Actin 5C*. На основании каких экспериментов был выбран именно этот ген и почему использовался только один?».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оба оппонента являются компетентными специалистами в области генетики и энтомологии, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является старейшим учреждением, занимающимся генетическими исследованиями, сотрудники которого имеют большой опыт применения молекулярно-генетических методов в генетике, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано участие ключевых генов инсулинового сигнального каскада – инсулиноподобного пептида DILP6 (Insulin-like peptide 6) и транскрипционного фактора (ТФ) dFOXO (Forkhead class box O) в регуляции углеводного обмена и пищевого поведения *Drosophila melanogaster* в нормальных условиях, а также жирового метаболизма как в нормальных, так и стрессовых условиях. Доказано, что активность генов инсулиноподобного пептида DILP6 и инсулиноподобного рецептора dInR в условиях кратковременного теплового шока (60-90 мин, 38°C) контролируется через изменение экспрессии и локализации ТФ dFOXO.

Предложена модель взаимодействия компонентов инсулинового сигнального каскада (инсулиноподобных пептидов DILP1-3 и DILP6, dInR и ТФ dFOXO) и гормонов, участвующих в нейроэндокринной стресс-реакции дрозофилы, включая биогенные амины, гонадотропные гормоны и адипокинетический гормон.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что проведено комплексное исследование влияния теплового стресса на локализацию и экспрессию ключевых компонентов инсулинового сигнального каскада инсулиноподобных пептидов DILP2, DILP3 и DILP6, инсулиноподобного рецептора dInR и ТФ dFOXO, а также на углеводно-жировой обмен и интенсивность питания у *D. melanogaster*.

Показано, что DILP3, DILP6, dInR и dFOXO участвуют в ответе на кратковременное тепловое воздействие, причем уровень экспрессии генов *dilp6* и *dInR* в условиях стресса контролируется ТФ dFOXO.

Показано, что кратковременное тепловое воздействие в течение 30 минут приводит к повышению уровня глюкозы и трегалозы сразу после окончания стресса, однако это не связано с изменением экспрессии гена

Treh, фермента деградации трегалозы. **Показано**, что тепловое воздействие в течение 60 минут приводит к снижению содержания липидов и интенсивности питания спустя 24 часа после окончания воздействия.

Показано, что гены *dilp6* и *dfxoxo* участвуют в регуляции содержания липидов у самок *D. melanogaster* в нормальных и в стрессовых условиях (38°C, 30-60 минут), а также в регуляции углеводного метаболизма и пищевого поведения дрозофилы в отсутствие теплового воздействия.

Изучено влияние стресс-связанных гормонов – дофамина, октопамина, 20-гидроксиэкдизона и ювенильного гормона на углеводный метаболизм дрозофилы в нормальных условиях и при тепловом стрессе. **Показано**, что дофамин, 20-гидроксиэкдизон и ювенильный гормон не препятствуют ответу системы углеводного метаболизма *D. melanogaster* на кратковременный тепловой стресс, в отличие от октопамина, который приводит к снижению содержания глюкозы как в нормальных условиях, так и при тепловом стрессе.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что в ходе выполнения работы получены новые фундаментальные знания о генетических механизмах регуляции нейроэндокринного ответа насекомых при тепловом стрессе, которые могут быть использованы для разработки способов манипулирования пищевым поведением насекомых, сохранения ценных видов полезных насекомых – опылителей и энтомофагов – в условиях усиливающейся антропогенной нагрузки, а также защиты от насекомых-вредителей и переносчиков инфекционных заболеваний.

Результаты диссертационной работы представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического профиля, изучающих механизмы генетического контроля адаптации живых

организмов к условиям внешней среды, и могут быть использованы как в фундаментальных, так и в прикладных исследованиях, а также в образовательном процессе при подготовке специалистов в области генетики, молекулярной и клеточной биологии, энтомологии, в частности физиологии и биохимии насекомых.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр молекулярных и биохимических методов, включая полимеразную цепную реакцию в реальном времени, иммуногистохимический метод анализа с применением флуоресцентной и конфокальной микроскопии, спектрофотометрический метод определения содержания углеводов, сульфофосфованилиновый метод анализа общих липидов, физиологический метод оценки интенсивности капиллярного питания, а также методы статистического анализа данных, которые позволили существенно расширить представления о механизме нейроэндокринной стресс-реакции у насекомых и представить подробную схему взаимодействия ее компонентов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность, которая подтверждается экспериментальными данными, полученными на больших экспериментальных выборках животных с использованием современных методов, адекватных поставленным задачам, позволивших провести комплексное исследование влияния теплового стресса на экспрессию генов инсулинового сигнального каскада и их вклад в регуляцию углеводно-жирового обмена и метаболическое поведение дрозофилы.

Результаты исследования статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями. При обсуждении результатов работы, касающихся взаиморегуляции элементов

инсулинового сигнального каскада и стресс-связанных гормонов дрозофилы, а также возможного механизма влияния теплового стресса на углеводно-жировой метаболизм и метаболическое поведение дрозофилы, учитывались данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в планировании и проведении научных экспериментов, обработке и интерпретации экспериментальных данных, участии в апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно. Иммуногистохимический анализ локализации dInR, DILP2, DILP3 и dFOXO проведен совместно с к.б.н. Андреевской О.В. (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск) на базе ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН. Дизайн праймеров к генам *dilp6* и *Treh* для ПЦР выполнен к.б.н. Пирожковой Д.С. (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск). Дисперсионный анализ результатов, оценку через байесовский критерий BF_{10} и анализ данных по экспрессии генов методом $2^{-\Delta\Delta CT}$ проведен совместно с к.б.н. Меньшановым П.Н.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют специальности 1.5.7. – генетика.

В ходе защиты диссертации были высказаны замечания по поводу качества иллюстраций по микроскопии. Соискатель Бобровских М.А. аргументировано ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 17 ноября 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Бобровских М.А. (в девичестве Ереминой М.А.) учёную степень кандидата биологических наук за **решение научной задачи**, связанной с исследованием генетико-биохимических механизмов нейроэндокринной стресс-реакции у насекомых, **имеющей значение для**

развития биологических методов сохранения полезных видов насекомых и борьбы с насекомыми вредителями и переносчиками инфекционных заболеваний.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.7. – генетика, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета,
доктор биологических наук

В.К. Шумный

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

17.11.2021 г