

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01

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 № \_\_\_\_\_

Дата защиты 22 июня 2016 г. протокол № 16

О присуждении **Коростиной Валерии Сергеевны**

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изучение локализации и функциональной значимости белка Каизо в организме взрослых мышей» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 16.03.2016, протокол № 7, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр.ак. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет 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:** Коростина Валерия Сергеевна, 1987 года рождения, в 2010 году окончила Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва.

С 01.10.2010 г. по 01.10.2013 г. Коростина В.С. обучалась в очной аспирантуре Центра «Биоинженерия» РАН (ФИЦ Биотехнологии РАН), г. Москва, в настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории геномики и эпигеномики позвоночных

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории геномики и эпигеномики позвоночных Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Научный руководитель: **Жигалова Надежда Алексеевна** - кандидат биологических наук, научный сотрудник в лаборатории геномики и эпигеномики позвоночных Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», г. Москва.

Официальные оппоненты:

- 1) **Лагарькова Мария Андреевна** - доктор биологических наук, профессор РАН, зав. лабораторией клеточной биологии ФГБУ Федерального Научно-Клинического Центра Физико-Химической Медицины федерального медико-биологического агентства, г. Москва.
- 2) **Колосова Наталия Гориславовна** - доктор биологических наук, профессор, зав. сектором молекулярных механизмов старения ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** ФГБУНУ «Научно-Исследовательский Институт Морфологии Человека», г. Москва. В положительном заключении, подписанном заведующей лабораторией роста и развития, д.б.н. Г.Б. Большаковой, и утвержденном директором ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», д.м.н., профессором, О.В.

Макаровой, указано, что «диссертационная работа В.С. Коростиной «Изучение локализации и функциональной значимости белка Каизо в организме взрослых мышей», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, является законченным научным исследованием. По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Коростиной Валерии Сергеевны соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении 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 ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология». Отзыв заслушан и утвержден на совместной конференции лабораторий роста и развития, иммуномофологии воспаления, патологии репродукции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека», протокол № 14 от 16 мая 2016 г.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, все по теме диссертации, общим объемом 44 страницы, в том числе 5 статей, опубликованных в научных рецензируемых изданиях и 8 тезисов в материалах российских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. **Shumskaya (Коростина), V.S.** Distribution of Kaiso protein in mouse tissues / **V.S. Shumskaya (Коростина), N.A. Zhigalova, A.V. Prokhorchouk, E.B. Prokhorchouk** // *Histochem Cell Biol.* – 2015. – Vol.143. – № 1 – P. 29-43.
2. Kulikov, A.V. Knockout *Zbtb33* gene results in an increased locomotion, exploration and pre-pulse inhibition in mice / A.V. Kulikov, **V.S**

**Korostina, E.A.** Kulikova, D.V. Fursenko, A.E. Akulov, M.P. Moshkin, E.B. Prokhortchouk // Behav Brain Res. – 2016. – Vol.297. – P. 76-83.

3. **Коростина, В.С.** Поведенческое фенотипирование мышей с нокаутом гена *Kaiso* / **В.С. Коростина, А.В. Куликов** // Вавил. Журн. Генетики и селекции. – 2015. – Т.19. – № 4. – С. 399-403.

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные.

Отзывы прислали:

1. **КАНТИДЗЕ О. Л.** – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории структурно-функциональной организации хромосом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена РАН (г. Москва).  
«Не вполне понятно при прочтении автореферата, насколько такая гистохимическая характеристика была полной – были ли исследованы все ткани и органы».  
«Из автореферата не ясно, насколько статистически достоверны результаты, полученные с помощью МРТ – хотелось бы знать, насколько велика выборка»
2. **НЕДОЛУЖКО А.В.** – к.б.н., начальник лаборатории геномики и биоинформатики Курчатовского комплекса НБИКС-технологий НИЦ «Курчатовский институт» (г. Москва).
3. **ЛИПИНА Т.В.** – к.б.н., доцент каф. клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (г. Москва).  
«В тексте, за исключением подписей к нескольким рисункам, не указано, сколько животных было в каждой экспериментальной группе в каждом эксперименте».
4. **СТАХЕЕВ А.А.** – к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (г. Москва).

«Остаётся не ясным, какое количество мышей было проанализировано в поведенческих экспериментах в каждой группе и сколько раз повторяли эксперимент»

«при определении роли Каизо в развитии острого воспаления не ясно, какие мыши были взяты для анализа, были ли это мыши из одного помёта для исключения влияния микробиоты на результаты эксперимента»

На все замечания Коростиной В.С. были даны убедительные ответы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области клеточной биологии, цитологии, гистологии, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтов в нашей стране по проведению фундаментальных и прикладных (в том числе клинических), экспериментальных исследований в области патологической анатомии, гистологии, цитологии, клеточной биологии.

**Диссертационный совет отмечает, что** на основании выполненных соискателем исследований **доказано**, что метил-ДНК связывающий белок Kaiso (Каизо) ВТВ/POZ семейства транскрипционных факторов участвует в регуляции функций нервной системы – он имеет множественную локализацию в различных структурах мозга мышей и является необходимым, как для развития нормальной морфологии головного мозга, так и связанных с ним функций – поведенческой активности животных и их когнитивных способностей. **Доказано** также участие белка Kaiso в развитии острого колита.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что** впервые, **изучена** локализация белка Kaiso в тканях и органах мышей линии C57BL/6, с использованием модели генетического нокаута *kaiso*.

**Доказано, что** белок Kaiso локализуется преимущественно в ядрах эпителиальных клеток различных тканей и органов мышей, нейронов и глии различных структур мозга, а также в ядрах клетках тимуса, селезёнки и семенников взрослых мышей. Исключением является цитоплазматическая локализация белка Kaiso в фотосенсорных клетках.

Впервые **изучены** морфологические параметры структур головного мозга и поведенческие характеристики мышей – нокаутов по гену *kaiso*. **Доказано**, что отсутствие гена *kaiso* приводит к уменьшению боковых желудочков мозга, увеличению двигательной и исследовательской активности, увеличению способности к сенсомоторной фильтрации, снижению способности к обучению и нарушению пространственной памяти.

**Изучено** влияние нокаута гена *kaiso* на развитие острого колита у мышей. **Доказано**, что отсутствие этого гена приводит к сдерживанию развития острого воспалительного ответа на воздействие декстран сульфата натрия, что выражается в отсроченном снижении веса, менее выраженном проявлении морфологических и гистологических признаков воспаления, а также снижении экспрессии провоспалительных цитокинов по сравнению с линией дикого типа C57BL/6.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, разработаны методические рекомендации по использованию белка Kaiso в качестве нового маркера двух морфологических типов сперматогониальных стволовых клеток репродуктивной системы мышей.**

**Определены перспективы практического использования** генетической модели – линии мышей с нокаутом гена *kaiso*, для исследования молекулярных и нейробиологических механизмов эпигенетической регуляции функции нервной системы и поведения, в том числе для изучения синдрома

двигательной расторможенности, а также в исследованиях по выявлению новых функций данного гена.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического профиля, изучающих вопросы функциональной значимости метил-ДНК связывающих белков, занимающихся разработкой экспериментальных моделей, методов гистологической диагностики и морфометрии, и могут быть использованы в образовательном процессе на биологических факультетах высших учебных заведений.

**Применительно к проблематике диссертации результативно** использованы классические гистологические и молекулярные методы, позволившие изучить локализацию белка Kaiso в органах и тканях мышей и выявить функциональную значимость Kaiso при развитии острого колита, а также современные методы магнитно-резонансной томографии и широкий набор различных тестов для исследования поведенческих характеристик мышей, позволивших получить уникальные данные об участии гена *kaiso* в регуляции функций нервной системы.

**Оценка достоверности результатов исследования** выявила высокую воспроизводимость полученных данных и наличие всех экспериментальных контролей. В качестве негативного контроля использовали органы и ткани мышей, нокаутных по гену *kaiso*, а оценка тяжести течения воспалительного процесса дополнялась подсчётом показателей индекса активности колита и индекса гистологической активности. В работе использованы методики, адекватные поставленным задачам, результаты экспериментальных этапов работы получены с использованием современного сертифицированного оборудования и могут быть использованы другими исследователями. Интерпретация результатов о локализации и функциональной значимости белка Kaiso в организме взрослых мышей учитывают данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

**Личный вклад автора** состоит в непосредственном проведении генотипирования мышей, приготовлении препаратов органов мышей, проведении иммуногистохимического окрашивания и последующего анализа при помощи флуоресцентной микроскопии, участии в постановке научных экспериментов по поведенческому фенотипированию мышей, в проведении экспериментов по изучению функциональной значимости белка Kaiso при остром воспалении как *in vitro*, так и *in vivo*, а также в анализе данных на всех этапах работы, интерпретации полученных результатов и в подготовке публикаций по выполненной работе. Поведенческие тестирования и морфологический анализ головного мозга мышей при помощи магнитно-резонансной томографии проводились совместно с коллегами из лаборатории нейрогеномики поведения ИЦиГ СО РАН.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 1 «Изучение закономерностей цито- и гистогенеза, строения и функции клеток и тканей» и п. 5. «Исследование адаптации тканевых элементов к действию различных биологических, физических, химических и других факторов» паспорта специальности 03.03.04. — клеточная биология, цитология, гистология.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 22 июня 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Коростиной Валерии Сергеевне учёную степень кандидата биологических наук.



При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 5 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за — 20, против — нет, недействительных бюллетеней — нет.

Председатель  
диссертационного совета,  
академик РАН



В.К. Шумный

И.о.ученого секретаря  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Т.И. Аксенович

22.06.2016 г.