

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01
(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 23июня 2021 г. протокол № 10

О присуждении Пирожковой Дарье Сергеевне
учёной степени кандидата биологических наук

Диссертация «Структурно-функциональная организация генов сапозин В-подобных белков описторхид» по специальности 03.02.07 – генетика, принята к защите 07.04.2021 г, протокол №5, 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. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утверждён ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутверждён Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Пирожкова Дарья Сергеевна, 1982 года рождения. В 2007 году окончила Новосибирский государственный университет, Новосибирск.

С 01.10.2009 г. по 1.10.2012 г. Пирожкова Д.С. обучалась в очной аспирантуре Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. В период подготовки диссертации работала инженером отдела генетики насекомых ИЦиГ СО РАН. В настоящее время работает инженером отдела генетики насекомых ИЦиГ СО РАН.

Диссертация выполнена в отделе генетики насекомых Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Научный руководитель: **Катохин Алексей Вадимович** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генетики насекомых ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Жигилева Оксана Николаевна** – доктор биологических наук, профессор кафедры экологии и генетики Института биологии ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», г. Тюмень.
2. **Лактионов Павел Петрович** – кандидат биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной медицины ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», г. Новосибирск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», г. Новосибирск. В своём положительном заключении, подписанном заведующим лабораторией клеточного деления ИМКБ РАН, к.б.н. Пиндюриным Алексеем Валерьевичем и утверждённом директором ИМКБ СО РАН д.б.н. Демаковым Сергеем Анатольевичем, указано, что диссертация Пирожковой Д.С. «Структурно-функциональная организация генов сапозин В-подобных белков описторхид» полностью соответствует п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 № 842 (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 № 335 и от 2.08.2016 № 748), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук), а ее автор заслуживает присуждения

искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика. Отзыв обсужден и утвержден на семинаре лаборатории клеточного деления ИМКБ СО РАН, протокол №1 от 7 июня 2021 года.

Соискатель имеет всего 10 публикаций, из них 5 – по теме диссертации, общим объемом 25 страниц, в том числе 3 статьи, опубликованных в научных рецензируемых изданиях, (Wos, Scopus) и 2 тезиса в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. Pirozhkova, D., Katokhin, A. *Opisthorchis felinus* genes differentially expressed under praziquantel shed light on the nature of tegument disruption and indicate the adaptive role of cGMP-dependent protein kinase, 2020, Parasitology Research, V.119(8), P. 2695-2702. WoS, Scopus (IF 1,84)
2. Pirozhkova, D., Katokhin, A. Saposin-like proteins in *Opisthorchis felinus* and related opisthorchids, 2019, Infection, Genetics and Evolution, V.78, 104132. WoS, Scopus (IF 2,72)
3. Pakharukova, M., Shilov, A., Pirozhkova, D., Katokhin, A., Mordvinov, V. The first comprehensive study of praziquantel effects in vivo and in vitro on European liver fluke *Opisthorchis felinus* (Trematoda), 2015, Int J Antimicrob Agents, V.46(1), P.94-100. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.02.012. WoS, Scopus (IF 4,66)

На автореферат диссертации поступило 3 отзыва, все положительные.

Отзывы прислали:

1. Ромашов Б.В. – д.б.н., главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Воронежский государственный заповедник», г. Воронеж.
2. Симакова А.В. – д.б.н., заведующая кафедрой зоологии беспозвоночных Биологического института Федерального государственного автономного образовательного учреждения

высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск.

3. Карпенко Лариса Ивановна – д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Новосибирская обл.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики, молекулярной биологии и паразитологии, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали своё письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих учреждений по изучению молекулярной генетики, сравнительной и структурной геномики, а также реализации генетической информации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что в пределах семейства Opisthorchiidae гены сапозин В-подобных белков (SAP) являются высоко консервативными и образуют три группы ортологов. Доказано, что SAP3 белки содержат уникальный для описторхид высоко консервативный мотив со специфической пространственной структурой и выраженными основными свойствами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые изучена экзон-интронная структура SAP генов у описторхид видов *Opisthorchis felinus*, *Clonorchis sinensis*, *O. viverrini* и *Metorchis orientalis* и особенности доменной организации белков, кодируемых этими генами. Показано, что геномы изученных видов описторхид содержат по три гена, кодирующих структуру сапозин В-подобных белков, причем гомологичные гены имеют одинаковую экзон-интронную структуру, а соответствующие белки одинаковую доменную организацию. Гены сапозин В-подобных белков всех изученных видов описторхид содержат микроэкзоны.

Показано, что в SAP3 белках описторхид присутствует уникальный белковый мотив, представляющий собой α -спираль, одна сторона которой содержит пять остатков тирозина, а другая – кластер из четырех аминокислот с основными свойствами.

Впервые **проведена** филогенетическая реконструкция эволюционных связей сапозин В-подобных белков описторхид. **Показано**, что увеличение числа паралогов SAP генов и их последующая дивергенция в разных отрядах трематод происходили независимо.

Впервые **проведен** анализ экспрессии генов SAP1, SAP2 и SAP3 на разных стадиях развития описторхид, а также при обработке взрослых особей празиквантелом – основным препаратом для лечения описторхозов и других трематодозов. **Показано**, что гены SAP1 и SAP2 специфически экспрессируются у взрослых особей *O. felineus*, *C. sinensis*, *O. viverrini* и *M. orientalis*, а ген SAP3 – в метацеркариях. **Показано**, что экспрессия гена SAP2 увеличивается при культивировании взрослых особей *O. felineus in vitro*, а также при обработке взрослых паразитов празиквантелом *in vivo*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что в ходе выполнения работы **получены** новые фундаментальные знания о структуре и функциях сапозин В-подобных белков описторхид, свидетельствующие об участии SAP в патогенезе описторхидозов и возможности их использования для создания диагностических систем. Данные о влиянии празиквантела на экспрессию SAP2 у *O. felineus* свидетельствуют о возможности возникновения осложнений при лечении данным препаратом.

Результаты диссертационной работы представляют интерес для научно-исследовательских организаций медико-биологического профиля, изучающих различные аспекты биологии паразитов, и могут быть использованы как в фундаментальных, так и в прикладных исследованиях, в том числе, направленных на разработку новых подходов и стратегий диагностики

гельминтозов, а также в образовательном процессе на биологических, медицинских и ветеринарных факультетах высших учебных заведений.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы молекулярной генетики (обратная транскрипция, полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование по Сэнгеру, ПЦР в реальном времени), методы сравнительного анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, основанные на их выравнивании, а также филогенетический анализ с использованием программы MEGA7. С их помощью в геномах четырех видов описторхид проведен поиск генов, кодирующих сапозин В-подобные белки, исследованы особенности их структуры, эволюции и экспрессии на разных стадиях развития паразита.

Для получения взрослых особей *O. felineus* и оценки влияния празиквантела на экспрессию генов *SAP* использована модель описторхоза на хомячках *Mesocricetus auratus*, полученная ранее в ИЦИГ СО РАН. При исследовании влияния празиквантела на подвижность и целостность тегумента у взрослых особей *O. felineus* применена световая и флуоресцентная микроскопия.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность, которая подтверждается использованием для поиска генов сапозин В-подобных белков у описторхид и анализа их структурно-функциональной организации набора методов, адекватных поставленным задачам, позволивших провести анализ доступных данных секвенирования геномов и транскриптомов описторхид, выявить целевые последовательности, определить экзон-интронную структуру *SAP* генов и уровень их транскрипции. Результаты экспериментальных исследований действия празиквантела на взрослых особей *O. felineus* и его влияния на экспрессию генов *SAP* получены с использованием современного сертифицированного оборудования для ПЦР, ПЦР в реальном времени, секвенирования по Сэнгеру, флуоресцентной и световой микроскопии и могут быть использованы другими исследователями. О надежности полученных данных свидетельствует также

экспериментальное подтверждение наличия в транскриптом *O. felineus* теоретически предсказанного транскрипта *SAP2*. При обсуждении результатов диссертационной работы, касающихся структуры и функций *SAP* белков учитывались данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

Личный вклад автора заключается в выполнении всех биоинформатических и молекулярно-генетических исследований, включая сбор и анализ данных, дизайн праймеров для ПЦР, проведение ПЦР, количественной ПЦР и интерпретацию полученных результатов. Помимо этого, автор принимал участие во всех манипуляциях с лабораторными животными и живыми паразитами.

Исследование влияния празиквантела *in vitro* на подвижность и целостность тегумента взрослых особей *O. felineus* выполнены совместно с д.б.н. М.Ю. Пахаруковой (ФИЦ ИЦиГ СО РАН, лаборатория молекулярных механизмов патологических процессов).

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 2 «Генетический код. Структурно-функциональная организация геномов», п. 7 «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Роль геномных перестроек в реализации генного действия. Взаимодействие генов» и п. 12 «Структурная, функциональная и эволюционная геномика. Генетическая биоинформатика. Геносистематика» паспорта специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

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

На заседании 23 июня 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Пирожковой Дарье Сергеевне учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 8 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – 3, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета

Академик РАН



 В.К. Шумный

Учёный секретарь диссертационного совета,

доктор биологических наук



Т.М. Хлебодарова

23.06.2021 г.