

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 12 октября 2022 г. № 26

О присуждении Малькеевой Дине Александровне

(гражданка Республики Казахстан)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Малькеевой Д.А. «Влияние делеции гена малого белка теплового шока *Hsp67Bc* на устойчивость *Drosophila melanogaster* к различным типам стресса» по специальностям 1.5.22. – клеточная биология и 1.5.7. – генетика, принята к защите 08.06.2022 г, протокол № 9, 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: Малькеева Дина Александровна, 29 октября 1990 года рождения, в 2013 году окончила Факультет естественных наук Новосибирского государственного университета с присуждением степени

специалиста по направлению подготовки «биология». В 2016 году окончила очную аспирантуру НГУ. В настоящее время работает младшим научным сотрудником в секторе структурной биологии клетки ИЦиГ СО РАН.

Диссертация выполнена в секторе структурной биологии клетки ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научные руководители – кандидат биологических наук Киселева Елена Владимировна, ведущий научный сотрудник сектора структурной биологии клетки Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, и кандидат биологических наук Фёдорова Светлана Александровна, ведущий научный сотрудник, и.о. зав. сектором генетики клеточного цикла Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Пасюкова Елена Генриховна**, д.б.н., профессор, зав. лабораторией геномной изменчивости ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Москва,

2. **Похолкова Галина Витальевна**, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва в своём положительном отзыве, составленном доктором

биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярных механизмов биологической адаптации ИМБ РАН Давидом Григорьевичем Гарбузом и утвержденном директором ФГБУН Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, академиком РАН Георгиевой С.Г., указала, что «Диссертационная работа Малькеевой Д.А. «Влияние делеции гена малого белка теплового шока *Hsp67Bc* на устойчивость *Drosophila melanogaster* к различным типам стресса» 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 специальностям: 1.5.22. – Клеточная биология и 1.5.7. – Генетика. Отзыв заслушан, обсуждён и одобрен на заседании лаборатории Молекулярных механизмов биологической адаптации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук 20 сентября 2022 г.»

Соискатель имеет всего 21 опубликованную работу, из них по теме диссертации 9, общим объемом 43 страницы, из них в рецензируемых научных изданиях (WoS, Scopus) опубликовано 4 работы и 5 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.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. Malkeyeva D., Kiseleva E., Fedorova S. Small Heat Shock Protein Hsp67Bc Plays a Significant Role in *Drosophila melanogaster* Cold-Stress Tolerance // J Exp Biol. 2020. 2;223(Pt 21):jeb219592. doi: 10.1242/jeb.219592. (ИФ 3,312; Medline, Scopus, Web of Science);

2. Malkeyeva D., Kiseleva E., Fedorova S.A. Loss of *Hsp67Bc* leads to autolysosome enlargement in the *Drosophila* brain // Cell Biol Int. 2022. 46(2):203–212. doi: 10.1002/cbin.11721. (ИФ 3,612; PubMed/Medline, Scopus, Web of Science);

3. Malkeyeva D., Fedorova S.A., Kiseleva E. The impact of the *Hsp67Bc* gene product on *Drosophila melanogaster* longevity, fecundity, and acute heat stress tolerance // Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2022. 26(2):169–178. doi: 10.18699/VJGB-22-21. (ИФ РИНЦ 1,157; PubMed Central, РИНЦ, Scopus, Web of Science).

На диссертацию и автореферат поступило 8 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

1) Глупов В.В. – д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск, и Крюкова Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории патологии насекомых ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск.

2) Никитина Е.А. – д.б.н., профессор кафедры анатомии и физиологии человека и животных ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», г. Санкт-Петербург.

3) Саранцева С.В. – д.б.н., заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией экспериментальной генетики НИЦ «Курчатовский институт» – ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Гатчина. «Чем объясняются различия в выживаемости между самцами и самками после воздействия холода? Чем обусловлен уровень температуры содержания мух, равный 29 °С? Является ли данная температура стрессовым фактором для дрозофил?»

4) Захаров И.К. – д.б.н., профессор, главный специалист профессор-консультант ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО

РАН», г. Новосибирск.

5) Колесникова Т.Д. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной цитогенетики ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск.

6) Брагина Ю.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории сравнительной генетики поведения ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург. «Большой интерес представляет обнаруженный автором половой диморфизм в выживаемости после холодовой комы у мух с делецией гена *Hsp67Vc*... Однако возможные причины и механизмы автор никак не прокомментировал.»

7) Камышев Н.Г. – д.б.н., заведующий лабораторией сравнительной генетики поведения ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург. «Мелкое замечание: из текста автореферата не понятно, как содержали мух в разных экспериментах, в группах какого размера, когда самцов и самок вместе, а когда по отдельности.»

8) Серяпина А.А. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории эволюционной генетики ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оба оппонента являются компетентными специалистами в области генетики и клеточной биологии, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих учреждений по изучению молекулярных механизмов биологической адаптации с применением молекулярно-генетических и цитологических методов, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что малый белок теплового шока

Hsp67Bc влияет на устойчивость *Drosophila melanogaster* к воздействию холода. Отсутствие гена *Hsp67Bc* приводит к изменению морфологии аутолизосом в нейронах мозга мух в присутствии бактерий *Wolbachia*, усугубляет деградацию фасеток глаза, вызванную агрегацией пептида Ataxin-3 с удлинённым полиглутаминовым трактом, а также отражается на продолжительности жизни *D. melanogaster* при нормальной и повышенной температуре.

Высказана гипотеза, что увеличение числа аутофагических вакуолей в яичниках и мозге нуль-аллельных по гену *Hsp67Bc* *D. melanogaster* может быть отражением усиления процессов макроаутофагии в тканях мух и причиной увеличения продолжительности их жизни в нормальных условиях.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что впервые изучена и показана роль гена, кодирующего малый белок теплового шока Hsp67Bc, в устойчивости *D. melanogaster* к различным стрессовым воздействиям, включая повышенную и пониженную температуру, белковое голодание и присутствие в организме мух патогенного штамма внутриклеточных симбиотических бактерий *Wolbachia*. **Показано**, что постоянное содержание мух, гомозиготных по делеции гена *Hsp67Bc*, в условиях повышенной температуры (29°C) не снижает продолжительность жизни самцов и самок, но приводит к увеличению продолжительности их жизни на ~35% в нормальных условиях (24–25 °C).

Показано, что отсутствие гена *Hsp67Bc* белка теплового шока не снижает плодовитость самок и выживаемость личинок и куколок *D. melanogaster* после кратковременного теплового стресса (2 ч, 37°C), но отрицательно сказывается на устойчивости взрослых мух к воздействию холода – наблюдается значительное замедление их восстановления после холодовой комы (12 ч, 0 °C) и снижение выживаемости самок.

Показано, что у нуль-аллельных по гену *Hsp67Bc* мух повышается уровень деградации фасеток глаза, наблюдаемой при эктопической экспрессии мутантного гена *ATXN3* человека, и возрастает число

аутофагических вакуолей в яичниках самок на фоне белкового голодания и в нейронах мозга мух в присутствии патогенного штамма *wMelPop* *Wolbachia*. Показано также, что делеция гена *Hsp67Bc* приводит к изменению морфологии аутолизосом и увеличению их размеров в нейронах мозга мух в присутствии *Wolbachia*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что в ходе выполнения работы получены новые знания о роли малого белка теплового шока Hsp67Bc в устойчивости *D. melanogaster* к температурному стрессу, а также его вовлеченности в процесс макроаутофагии, которые расширяют наше представление о функциях белков теплового шока и их возможном влиянии на продолжительность жизни организмов.

Полученные результаты исследований могут быть использованы в курсах лекций по генетике и клеточной биологии для студентов биологических факультетов образовательных учреждений, а также в фундаментальных и прикладных исследованиях, посвященных изучению белков теплового шока и аутофагии.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр молекулярных, генетических и цитологических методов, включая выделение ДНК и РНК, полимеразную цепную реакцию в реальном времени, секвенирование ДНК, флуоресцентную гибридизацию *in situ*, флуоресцентную микроскопию и просвечивающую электронную микроскопию, морфометрический анализ органелл, а также методы статистического анализа данных, которые позволили определить вклад малого белка теплового шока Hsp67Bc в развитие ответной реакции на стресс у *D. melanogaster*, а также его роль в процессе макроаутофагии.

Оценка достоверности результатов исследования показала их высокую надежность и воспроизводимость, которая подтверждается использованием больших экспериментальных выборок насекомых, генетически близкого контроля и набора современных методов, адекватных

поставленным задачам, что позволило изучить влияние делеции гена *Hsp67Bc* дрозофилы на устойчивость мух к температурному стрессу, деградиацию фасеток глаза, вызванную экспрессией гена, кодирующего пептид с удлиненным полиглутаминовым трактом, а также на процесс макроаутофагии в нормальных условиях, при белковом голодании и в присутствии патогенных внутриклеточных симбиотических бактерий.

Результаты исследования статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями. При обсуждении результатов работы, касающихся феномена увеличения продолжительности жизни нуль-аллельных по гену *Hsp67Bc* мух в нормальных условиях, реакции дрозофил на температурный стресс и влияния делеции *Hsp67Bc* на процесс макроаутофагии учитывались данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в получении делеции в гене *Hsp67Bc*, создании стабильной линии *D. melanogaster* с этой делецией, планировании и проведении научных экспериментов, обработке и интерпретации экспериментальных данных, участии в апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно. Регистрация продолжительности жизни насекомых при тепловом воздействии, а также оценка морфологии глаз дрозофил осуществлялись совместно с к.б.н. С.А. Фёдоровой. Определение плодовитости и постановка скрещиваний, необходимых для получения мух, экспрессирующих ген *ATXN3* человека, проведены к.б.н. С.А. Фёдоровой. Анализ ультратонких срезов мозга дрозофил проводился при участии к.б.н. Е.В. Киселевой.

Цель работы и полученные соискателем научные результаты соответствуют специальностям 1.5.22. – клеточная биология и 1.5.7. – 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.

Диссертационный совет 12 октября 2022 г. принял решение присудить Малькеевой Д.А. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с выявлением влияния делеции гена *Hsp67Bc* малого белка теплового шока на жизнеспособность *D. melanogaster* в различных стрессовых условиях и на протекание процесса макроавтофагии в тканях мух.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Малькеева Д.А. аргументированно ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 12 октября 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Малькеевой Д.А. учёную степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с выявлением влияния делеции гена *Hsp67Bc* малого белка теплового шока на жизнеспособность *D. melanogaster* в различных стрессовых условиях и на протекание процесса макроавтофагии в тканях мух.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология и 6 докторов наук по специальности 1.5.7. - генетика, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – 3.

Зам. председателя
диссертационного совета,
Академик РАН, д.б.н.

А.В. Кочетов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Т.М. Хлебодарова
12.10.2022 г.