

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 1 марта 2023 г. № 8

О присуждении Романову Станиславу Евгеньевичу

(гражданин РФ)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Романова С.Е. «Роль белков CP190 и CG9879 в регуляции генов дифференцировки сперматоцитов *Drosophila melanogaster*» по специальности 1.5.7. - генетика, принята к защите 27.09.2022 г, протокол №21, 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: Романов Станислав Евгеньевич, 1 апреля 1993 года рождения, в 2017 г. с отличием окончил магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего

образования «Новосибирского национального исследовательского государственного университета». В 2021 г. Романов С.Е. окончил аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирского национального исследовательского государственного университета» по специальности 06.06.01 Биологические науки. В настоящее время Романов С.Е. работает младшим научным сотрудником лаборатории эпигенетики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирского национального исследовательского государственного университета» (НГУ).

Диссертация выполнена в лаборатории геномики ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Лактионов Пётр Павлович, научный сотрудник лаборатории геномики ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН.

Официальные оппоненты:

1. **Головнин Антон Клеменович**, д.б.н., профессор РАН, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики дрозофилы Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена Российской академии наук» (ИБГ РАН), г. Москва

2. **Юдкин Дмитрий Владимирович**, к.б.н., заведующий отделом геномных исследований Федерального бюджетного учреждения науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора), р.п. Кольцово, Новосибирская область

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной биологии им В.А. Энгельгардта Российской академии наук» (ИМБ РАН), в своём положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории молекулярных механизмов биологических адаптаций Зацепиной Ольгой Георгиевной, и утвержденном директором ФГБУН ИМБ РАН академиком РАН, доктором биологических наук Георгиевой С.Г., указала, что «Диссертация Романова Станислава Евгеньевича «Роль белков CP190 и CG9879 в регуляции генов дифференцировки сперматоцитов *Drosophila melanogaster*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - генетика, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методологическом уровне, в которой получены новые данные о механизмах регуляции генов дифференцировки на терминальных этапах развития клеток мужского зародышевого пути. По содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню, а также практической ценности полученных результатов диссертационная работа Романова С.Е. полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г, № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор работы заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – генетика. Отзыв обсужден и утвержден на заседании объединенного семинара лабораторий молекулярных механизмов биологической адаптации и лаборатории эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов (протокол №85 от 30.01.2023)».

Соискатель имеет всего 10 опубликованных работ, из них по теме диссертации 6, общим объемом 88 страниц, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях (Wos, Scopus), 2 тезиса в материалах международных и всероссийских конференций, 1 глава в монографии. Вот

всех опубликованных работах личный вклад автора был определяющий. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. Laktionov P.P., Maksimov D.A., **Romanov S.E.**, Antoshina P.A., Posukh O.V., White-Cooper H., Koryakov D.E., Belyakin S.N. Genome-wide analysis of gene regulation mechanisms during *Drosophila* spermatogenesis // 13 Epigenetics and Chromatin – 2018. – V. 11. – 14. DOI: 10.1186/s13072-018-0183-3. IF=5.488. (WoS, Scopus)
2. Kalashnikova D.A.*, Maksimov D.A.*, Romanov S.E.*, Laktionov P.P., Koryakov D.E. SetDB1 and Su(var)3-9 play non-overlapping roles in somatic cell chromosomes of *Drosophila melanogaster* // J Cell Sci – 2021. №134(2). – jcs253096. DOI: 10.1242/jcs.253096. IF=5.235. (WoS, Scopus)
* - равный вклад
3. Romanov S.E., Shloma V.V., Koryakov D.E., Belyakin S.N., Laktionov P.P. Insulator protein CP190 regulates expression of spermatocyte differentiation genes in *Drosophila melanogaster* male germline // Molecular Biology – 2022. DOI: 10.1134/S0026893323010120. IF=1,540. (WoS, Scopus)

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные. Отзывы прислали:

1) Федорова С.А. – к.б.н., ведущий научный сотрудник сектора генетики клеточного цикла ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск.

2) Есюнина Д.М. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунной системы прокариот Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена РАН», г. Москва

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

4) Филиппенков Иван Борисович – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории функциональной геномики Института молекулярной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Москва

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

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что на терминальных этапах развития клеток мужского зародышевого пути *Drosophila melanogaster* архитектурный белок CP190 участвует в регуляции активности сперматоцит-специфичных генов дифференцировки, чья транскрипция запускается сперматоцит-специфичным комплексом задержки мейоза tMAC.

Доказано, что в сперматоцитах *D. melanogaster* белок CG9879, гомологичный базальному фактору транскрипции ТВР, связывается с АТ-богатыми мотивами в промоторах генов-мишеней сперматоцит-специфичных транскрипционных факторов tTAF и tMAC, ответственных за активацию более тысячи генов дифференцировки на терминальных этапах развития клеток мужского зародышевого пути.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что впервые проведено исследование механизма участия инсуляторного белка CP190 в реализации генетической программы развития семенников у *D.*

melanogaster. **Показано**, что по мере дифференцировки клеток мужского зародышевого пути наблюдается изменение паттерна связывания белка CP190 с хроматином и его перераспределение к сайтам связывания транскрипционных факторов tMAC и tTAF.

Исследовано участие белка CP190 в организации барьеров на границах доменов репрессии Polycomb, для которых характерно обогащение гистоновой модификацией H3K27me3. **Показано**, что в терминально-дифференцированных клетках слюнных желез личинок белок CP190 не колокализуется с границами доменов и, следовательно, не участвует в функции барьеров, препятствующих распространению метки H3K27me3.

Впервые проведен анализ функции ранее неизученного гомолога TATA-бокса связывающего белка TBP, кодируемого сперматоцит-специфичным геном *CG9879*. При помощи системы редактирования CRISPR/Cas9 **впервые показано**, что полная делеция гена *CG9879* не влияет на жизнедеятельность мух, фертильность самцов и не приводит к значительным нарушениям в транскрипционной активности генов в семенниках.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработан оригинальный метод специфичной инактивации белка в клетках мужского зародышевого пути на фоне его эктопической экспрессии в организме нуль-мутантов. Метод позволил исследовать функцию белка CP190 в сперматоцитах взрослых мух, нарушение активности которого приводит к смерти на стадии личинок и куколок. Принцип работы метода универсален и может быть использован при исследовании механизмов действия различных эпигенетических регуляторов.

Полученные новые знания об участии инсуляторных белков и генов-гомологов TBP в регуляции дифференцировки сперматоцитов у *D. melanogaster* могут быть использованы в образовательном процессе при

чтении курсов лекций по генетике развития для студентов биологических факультетов высших учебных заведений, а также в фундаментальных и прикладных исследованиях, посвященных изучению генетических и эпигенетических механизмов регуляции развития.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр классических молекулярно-генетических и биоинформатических методов анализа геномных и транскриптомных данных, включая клонирование, ПЦР с обратной транскрипцией, люминисцентную микроскопию, гибридизацию РНК *in situ*, конфокальную микроскопию препаратов, иммуноокрашивание, картирование белков методом DamID-seq, исследование транскриптома методом RNA-seq. Также разработан собственный, оригинальный метод специфичной инактивации белков в клетках мужского зародышевого пути, основанный на *Cre-loxP* опосредованном удалении спасающей конструкции, предназначенной для эктопической экспрессии исследуемого белка, в организме нуль-мутантов, что в совокупности позволило расширить представление о механизмах регуляции генов дифференцировки, находящихся под контролем транскрипционных факторов tMAC и tTAF, в клетках мужского зародышевого пути дрозофилы.

Оценка достоверности результатов исследования показывает их высокую надежность, которая подтверждается экспериментальными данными, полученными с применением современных геномных методов анализа функции архитектурного белка CP190 и транскрипционного фактора CG9879, а также использованием обоснованных контролей.

Результаты исследования статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями. При обсуждении результатов работы, касающихся участия CP190 в регуляции генов дифференцировки, использовались данные секвенирования транскриптома семенников в масштабе единичных клеток, полученные международным консорциумом Fly Cell Atlas, и доступные всем исследователям по

рассматриваемой тематике.

Личный вклад автора заключается в создании дизайна исследования, проведении экспериментов, контроля качества полученных данных на всех этапах их анализа, обработке и интерпретации полученных результатов, апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно. Работа по математической обработке данных выполнена совместно с к.б.н. Лактионовым П.П. и к.б.н. Максимовым Д.А. (ИМКБ СО РАН); иммуноокрашивание и анализ препаратов на конфокальном микроскопе выполнены к.б.н. Шлома В.В. (ИМКБ СО РАН); гибридизация РНК *in situ* – Dr. Н. White-Cooper (Университет Кардиффа, Великобритания).

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 8 «Эпигенетика», п. 9 «Механизмы регуляции экспрессии генов» и п. 10 «Молекулярно-генетические механизмы основных биологических процессов» паспорта специальности 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 1 марта 2023 г. принял решение присудить Романову С.Е. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с выявлением механизмов регуляции экспрессии генов в ходе терминальной дифференцировки клеток мужского зародышевого пути *D. melanogaster*.


В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Романов С.Е. аргументированно ответил на все задаваемые ему в ходе заседания вопросы.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в

количестве 20 человек, 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 – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя
диссертационного совета,
доктор биологических наук




Н.Б. Рубцов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Т.М. Хлебодарова

01.03.2023 г