

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки

Центр теоретических проблем  
физико-химической фармакологии

Российской академии наук  
докт. физ.-мат. наук., профессор РАН,  
член-корр. РАН  
Пантелеев М.А.



*Пантелеев*  
« 13 » октября 2023 г.

## ОТЗЫВ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук о научно-практической значимости диссертации Поповой Юлии Владимировны на тему «Роль белков Eb1, Mars, Non3, Mei-38 и Mast в кинетохор-зависимом формировании микротрубочек веретена деления в культуре клеток S2 *Drosophila melanogaster*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология.

### **Актуальность темы исследования**

Диссертационная работа Поповой Юлии Владимировны посвящена одному из важных аспектов деления клеток – одного из наиболее фундаментальных биологических процессов. В фокусе внимания диссертационной работы – веретено деления – биполярная структура, состоящая из тубулиновых микротрубочек. Основная задача этой весьма динамичной клеточной структуры - точное распределение генетического материала по дочерним клеткам в митозе. Определение механизмов формирования веретена деления принципиально необходимо для понимания общего процесса клеточного деления и сегрегации хромосом. Большая часть

диссертационной работы посвящена наименее изученному на сегодняшний день пути формирования веретена деления - путем полимеризации тубулиновых микротрубочек от хромосом. Эта тема представляется особенно актуальной, т.к. данный путь образования веретена деления открыт сравнительно недавно и исследован в значительно меньшей степени, чем «классический путь», в том числе ввиду сложности задачи визуализации отдельных путей формирования веретена деления. В данной диссертационной работе авторы разделяют «классический» путь формирования веретена деления (от центросом) и относительно новый, «кинетохор-зависимый» (от хромосом) благодаря использованию специального приема – полной деполимеризации микротрубочек различными способами и дальнейшего наблюдения формирования веретена заново.

### **Научная новизна исследования**

В диссертации Поповой Юлии Владимировны проведены оригинальные исследования роли белков - регуляторов сборки динамики микротрубочек (Mast, Mei-38, Mars и Ebl), а также белка ядрышка Non3 на повторный рост микротрубочек веретена деления после их полной деполимеризации с помощью холодной обработки или воздействия ингибиторов сборки тубулина. Установлена локализация всех указанных белков в ходе данного процесса. Впервые показано, что белок Mast – ключевой регулятор кинетохор-зависимого формирования микротрубочек, а белок Non3-eGFP во время митоза не ко-локализуется с микротрубочками веретена деления, однако присутствует некоторое увеличение сигнала белка Non3-eGFP вокруг хромосом на стадии метафазы.

### **Достоверность научных результатов**

Результаты диссертации Поповой Юлии Владимировны получены на современном оборудовании согласно стандартным методикам. Основные результаты верифицированы двумя различными методиками

деполимеризации микротрубочек, что является достоинством работы и увеличивает степень достоверности результатов. Полученные данные обработаны методами математической статистики.

### **Значимость полученных результатов**

Значимость результатов диссертационной работы Поповой Юлии Владимировны обусловлена разработкой и улучшением существующих методик изучения формирования веретена деления, а также установлением внутриклеточной локализации и вкладов пяти различных белков в процесс формирования веретена деления. Результаты указывают на ведущую роль белка Mast в кинетохор-зависимом пути формирования веретена деления в клетках S2 *D. melanogaster*, а также позволяют с большой вероятностью исключить прямую роль белка Non3 в этом процессе и создают задел для более полного понимания первых фаз митотического цикла клеток животных.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Результаты и выводы диссертации могут быть востребованы в научных учреждениях, выполняющих фундаментальные исследования в области клеточной биологии и биологии развития. К таким организациям относятся, например, Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Институт цитологии РАН, Институт биологии гена РАН, НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ и другие научные учреждения.

### **Количество печатных работ**

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 4 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в международную базу данных Scopus, 13 тезисов в материалах российских и международных конференций. Содержание опубликованных автором оригинальных работ полностью отражает основные положения диссертации.

## Содержание диссертации

Диссертационная работа Поповой Юлии Владимировны имеет традиционную структуру и состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора научной литературы, описания использованных материалов и методов, результатов, обсуждения, выводов и списка цитированной литературы, содержащего 252 наименований. Работа изложена на 135 страницах, содержит 28 рисунков, 13 таблиц.

Во введении автор раскрывает актуальность темы исследования, формулирует цели и задачи диссертационной работы, обосновывает научную новизну и практическую значимость работы. Обозначенной автором целью исследования являлось исследование участия белков Eb1, Mars, Non3, Mei-38 и Mast в процессе кинетохор-зависимого формирования микротрубочек веретена деления в культивируемых клетках S2 *Drosophila melanogaster*.

Обзор литературы начинается с изложения общих принципов митотического деления клеток. Далее автором обсуждаются известные пути формирования веретена деления, роли различных белков в ходе этого процесса. Описываются механизмы регуляции длины веретена деления. Приводятся сведения о белках кинетохора и известных регуляторах динамики микротрубочек. Далее дается более подробный анализ литературных данных о каждом из белков, которые являются объектами исследования диссертационной работы. И наконец, в финальной части обзора литературы обсуждаются различные методы деполимеризации микротрубочек и данные о культивируемых линиях *D. Melanogaster*. В заключении к этой части диссертационной работы подчеркивается актуальность работы, поясняются причины выбора конкретных белков и подходов для изучения кинетохор-зависимого пути формирования веретена деления.

В разделе «Материалы и методы» подробно описаны молекулярно-биологические, биохимические и оптические экспериментальные подходы, применяемые в работе. Арсенал примененных в работе методов полностью соответствует специальности «клеточная биология» защищаемой

диссертационной работы и свидетельствует о высокой научно-методической подготовке диссертанта.

Далее описаны основные результаты исследования. Отдельная глава посвящена обсуждению результатов, в которой представлена интерпретация полученных результатов и их сравнение с имеющимися данными мирового научного сообщества. По результатам работы сформулировано 7 выводов, которые в целом соответствуют поставленной цели диссертационного исследования. Список литературы включает 252 литературных источника. Представленная диссертационная работа является законченным научно-исследовательским трудом и выполнена на высоком экспериментальном уровне.

#### **Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации**

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК. В целом, диссертационная работа является важным и оригинальным научным исследованием, выполненным на достаточно высоком методическом уровне. Несомненным достоинством работы является интересная постановка экспериментов, а также широкий арсенал методов клеточной, молекулярной биологии и биохимии, использованный в диссертационном исследовании.

Несмотря на достоинства, работа не лишена некоторых недостатков, которые не умаляют ее общей значимости.

1) В выводе № 1 автор диссертационного исследования указывает, что «холодовая деполимеризация микротрубочек при температуре 0°C позволяет изучить кинетохор-зависимое формирование веретена деления, в то время как деполимеризация микротрубочек при температуре -1°C и -2°C приводит к блокировке кинетохор-зависимого формирования микротрубочек». Этот вывод представляется не до конца обоснованным по следующим причинам. Во-первых, автор не сообщает в тексте диссертации погрешности измерения температуры в образце в каждом из случаев. Во-вторых, статистическая обработка данных, на основе которых делается вывод, также вызывает

некоторые сомнения, о чем подробнее будет указано в моем следующем замечании. Наконец, автор недостаточно поясняет причины выбора данных довольно близких температур для исследования, как и не дает подробного обсуждения причин значимых эффектов температуры. Например, возможно ли образование кристаллов льда в образце клеток при понижении температуры ниже 0 градусов по шкале Цельсия?

2) В работе недостаточно подробно описана процедура оценки статистической значимости различий, наблюдаемых в экспериментах. Например, исходя из графика на рисунке 28 и таблицы 13, создается ощущение, что авторы имели малое количество независимых биологических повторов, но «компенсировали» это большим количеством индивидуальных измерений параметров отдельных клеток. Это не совсем корректный подход, который может привести к неверной оценке статистической значимости.

3) В автореферате упоминание исследуемых белков появляется впервые при формулировке цели работы и очевидным образом не вытекает из раздела «Актуальность». Аналогичная проблема характерна и для введения диссертационной работы. Из этих разделов плохо понятно, почему вообще автором ставится цель изучить роль именно этих белков в контексте выбранной проблематики исследования?

4) В качестве незначительного стилистического замечания хотелось бы обратить внимание на употребление слова «кинетохор» в неверном роде, например, «вблизи кинетохор», а не «вблизи кинетохоров».

### **Заключение**

Диссертация «Роль белков Eb1, Mars, Non3, Mei-38 и Mast в кинетохор-зависимом формировании микротрубочек веретена деления в культуре клеток S2 *Drosophila melanogaster*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, имеющей существенное научное и практическое значение для глобальной проблемы антибиотикорезистентности.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Поповой Юлии Владимировны «Роль белков Eb1, Mars, Non3, Mei-38 и Mast в кинетохор-зависимом формировании микротрубочек веретена деления в культуре клеток S2 *Drosophila melanogaster*» соответствует требованиям, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (ред. от 18.03.2023), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология.

Отзыв на диссертацию Поповой Юлии Владимировны обсуждён на заседании ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук (протокол № 10 от «12» октября 2023 г.).

Зав.лаб. биофизики цитоскелета  
Доктор физ.-мат. наук



Гудимчук Никита Борисович

Адрес: 109029, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, д. 30

Email: Info@ctppcr.ru Тел.: 8 (495) 678-31-16

Подпись д.ф.-м.н., Гудимчука Н.Б. заверяю



Ученый секретарь Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Центр теоретических проблем  
физико-химической фармакологии Российской академии наук  
к.б.н.

Кольцова Екатерина Михайловна

« 13 » октября 2023 г.