

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 6 декабря 2023 г. № 39

О присуждении Риттеру Генриху Сергеевичу, гражданину РФ,
учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изучение клеточных и молекулярных механизмов радиопротекторного действия двуцепочечной РНК *Saccharomyces cerevisiae*» по специальности 1.5.22. – клеточная биология, принята к защите 20.09.2023 г. (протокол заседания № 29) диссертационным советом 24.1.239.01, 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) утверждён ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутверждён Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Риттер Генрих Сергеевич, 12 июня 1995 года рождения. В 2019 году окончил Новосибирский государственный университет по специальности «биология».

С 01.10.2019 г. по 05.06.2023 г. Риттер Г.С. обучался в очной аспирантуре ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук». С 2019 г. по настоящее время работает в Лаборатории высокотехнологического фенотипирования лабораторных животных – генетических моделей патологий

человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в Лаборатории индуцированных клеточных процессов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Научный руководитель: **Богачев Сергей Станиславович** – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории индуцированных клеточных процессов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

Баклашев Владимир Павлович – доктор медицинских наук, заместитель генерального директора по научной работе в ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России», г. Москва.

Васильев Станислав Анатольевич – доктор биологических наук, руководитель лаборатории инструментальной геномики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск.
Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск в своём положительном отзыве, подписанном старшим научным сотрудником лаборатории иммуногенетики ИМКБ СО РАН к.б.н. Волковой Ольгой Юрьевной и зав. отделом молекулярной иммунологии ИМКБ СО РАН д.б.н. Тараниным Александром Владимировичем, указало, что «...диссертационная работа Риттера Г.С. «Изучение клеточных и молекулярных механизмов радиопротекторного действия двуцепочечной РНК

Saccharomyces cerevisiae», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22 – клеточная биология, является законченным научно-квалификационным исследованием и представляет интерес для современной науки и медицины. Работа соответствует квалификационным критериям п.9 «Положения о присуждении ученых степени, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, утвержденное постановлением к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, утвержденное постановлением Правительства РФ от 24.09.2023 г. №842.

Автор диссертации, Риттер Генрих Сергеевич, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. – клеточная биология.

Отзыв на диссертационную работу обсужден и утвержден на семинаре Отдела молекулярной иммунологии Федерального бюджетного учреждения науки Института молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук ИМКБ СО РАН 15 ноября 2023 года, протокол №05.»

Соискатель имеет всего 29 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 5 статей в журналах входящих в международные базы цитирования (WoS, Scopus), и 6 публикаций в сборниках тезисов докладов российских научных конференций с международным участием, а так же 1 патент.

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

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. **Риттер Г.С.**, Николин В.П., Попова Н.А., Проскурина А.С., Кисаретова П.Э., Таранов О.С., Дубатолова Т.Д., Долгова Е.В., Поттер Е.А., Кирикович С.С., Ефремов Я.Р., Байборodin С.И., Романенко М.В., Мещанинова М.И., Веняминаова А.Г., Колчанов Н.А., Богачев С.С.

Характеристика активной субстанции препарата дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, обладающей радиопротекторными свойствами. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2020; 24(6): 643-652. (Scopus, 0.736)

2. **Ritter GS**, Nikolin VP, Popova NA, Proskurina AS, Kisaretova PE, Taranov OS, Dubatolova TD, Dolgova EV, Potter EA, Kirikovich SS, Efremov YR, Bayborodin SI, Romanenko MV, Meschaninova MI, Venyaminova AG, Kolchanov NA, Shurdov MA, Bogachev SS. Characterization of biological peculiarities of the radioprotective activity of double-stranded RNA isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. *Int J Radiat Biol.* 2020; 96(9): 1173-1191. (WOS, 2.694)

3. **Ritter GS**, Dolgova EV, Petrova DD, Efremov YR, Proskurina AS, Potter EA, Ruzanova VS, Kirikovich SS, Levites EV, Taranov OS, Ostanin AA, Chernykh ER, Kolchanov NA, Bogachev SS. The new general biological property of stem-like tumor cells Part I. Peculiarities of the process of the double-stranded DNA fragments internalization into stem-like tumor cells // *Frontiers in Genetics*. – 2022. – Т. 13. (WOS, 4.599)

4. Dubatolova TD, **Ritter GS**, Proskurina AS, Kisaretova PE, Nikolin VP, Popova NA, Ruzanova VS, Taranov OS, Kolchanov NA, Bogachev SS. Changes in the number and morphology of blood cells in mice pretreated with RNA preparations and exposed to 8 Gy of gamma radiation. *International Journal of Radiation Research.* 2022; 20(2): 361-368. (WOS, 0.779)

5. **Ritter GS**, Proskurina AS, Meschaninova MI, Potter EA, Petrova DD, Ruzanova VS, Dolgova EV, Kirikovich SS, Levites EV, Efremov YR, Nikolin VP, Popova NA, Venyaminova AG, Taranov OS, Ostanin AA, Chernykh ER, Kolchanov NA, Bogachev SS. Impact of Double-Stranded RNA Internalization on Hematopoietic Progenitors and Krebs-2 Cells and Mechanism // *Int J Mol Sci.* 2023, 24(5): 4858. (WOS, 5.923)

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

1. Евдокимов А.Н. – к.б.н., научный сотрудник лаб. биоорганической химии ферментов Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск.
2. Жимулев И.Ф. – Академик РАН, д.б.н., научный руководитель Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН, г. Новосибирск.
3. Ефремов Я.Р. – к.б.н., ведущий инженер центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН, г. Новосибирск.
4. Коробейников М.В. – к.т.н., старший научный сотрудник лаб. 14 Института ядерной физики СО РАН, г. Новосибирск.
5. Костюк С.В. – д.б.н., заведующий лабораторией молекулярной биологии ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», г. Москва.
6. Николин В.П. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории регуляции экспрессии генов Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск.
7. Омигов В.В. – к.м.н., заведующий лабораторией патоморфологии отдела микроскопических исследований Федерального бюджетного учреждения науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии, Новосибирская область, пос. Кольцово.
8. Пономаренко Михаил Павлович – д.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий сектором регуляторной компьютерной геномики, Лаборатория эволюционной биоинформатики и теоретической генетики, Отдел Системной Биологии, ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области клеточной биологии и медицины, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали своё письменное согласие быть оппонентами.

Ведущая организация является одним из ведущих учреждений в области клеточной молекулярной биологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что фракция двуцепочечной РНК (дцРНК), выделенная из суммарной РНК дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, обладает выраженным радиопротекторным действием, степень проявления которого у мышей, облученных летальными дозами γ -радиации, зависит от времени введения препарата.

Установлено, что фактором, определяющим радиозащитное действие дцРНК, является двуцепочечная форма и открытые концы молекул РНК.

Высказана оригинальная гипотеза, что клеточные механизмы радиопротекторной защиты мышей от последствий облучения связаны с возможностью интернализации молекул дцРНК предшественниками гемопоэтических клеток костного мозга через естественные механизмы эндоцитоза, что способствует сохранению их жизнеспособности, пролиферации и восстановлению популяции клеток иммунной и кроветворной систем.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что впервые изучены механизмы взаимодействия дцРНК, выделяемой из суммарной РНК дрожжей *S. cerevisiae*, с клеточными элементами кроветворной и иммунной систем облученных мышей и выявлены клеточные мишени, через которые реализуется радиопротекторное действие дцРНК.

Показано, что при внутривенном введении дцРНК не деградирует в кровотоке мыши, накапливается преимущественно в костном мозге и интернализуется низкодифференцированными гемопоэтическими клетками (c-Kit⁺ и CD34⁺).

Показано, что введение мышам препарата дцРНК за 30-60 минут до облучения летальной дозой гамма-радиации в 9,4 Гр, способствует сохранению жизнеспособности гемопоэтических клеток, индуцирует их

пролиферацию, выход в кровоток, а также последующее закрепление в селезенке, либо возвращение в костный мозг.

Показано, что у мышей, обработанных препаратом дцРНК, на 10-е сутки после облучения летальной дозой гамма-радиации 9,4 Гр в селезенке формируются множественные лейкоцитарные колонии, образованные сохранившими жизнеспособность гемопоэтическими предшественниками, что коррелирует с быстрым восстановлением белого и красного ростков кроветворения и высокой выживаемостью экспериментальных животных.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что определена и охарактеризована фракция дцРНК из препарата суммарной РНК дрожжей *S. cerevisiae*, обладающая выраженным радиопротекторным действием на клетки иммунной и кроветворной систем облученных мышей.

Препарат дцРНК, не уступающий по эффективности штатному радиопротектору «Б-190», представляет интерес для различных учреждений, деятельность которых связана с повышенными радиационными рисками и необходимостью защиты от ионизирующего облучения. Полученный препарат дцРНК может быть рекомендован для дальнейших исследований по разработке на его основе нового лекарственного препарата, обладающего экстренным и пролонгированным радиопротекторным действием.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр методов клеточной и молекулярной биологии. Для анализа рибонуклеиновых кислот применяли выделение суммарной РНК тризолом, хроматографическое разделение РНК на гидроксиапатите, качественное определение типа нуклеиновой кислоты по Дише и количественное определение по Спирину. Для наработки молекул дцРНК осуществляли синтез кДНК на РНК с помощью ревертазы, клонирование кДНК в плазмидный вектор, трансформацию плазмид в компетентные клетки, селекцию трансформантов и выделение из них плазмидной ДНК, секвенирование и контекстный анализ секвенированных

последовательностей, синтез и мечение искусственной последовательности РНК при помощи T4-полинуклеотидкиназы и отжиг искусственных РНК олигонуклеотидов в двуцепочечную молекулу. Для поиска клеточных мишеней действия дцРНК применяли *in vitro* интернализацию меченой РНК в клетки костного мозга и клетки Кребс-2, иммуноокрашивание антителами, меченными флуорохромом или пероксидазой хрена. Для выяснения радиопротекторных свойств дцРНК проводили патоморфологический анализ органов, микроскопический анализ клеток костного мозга и крови, анализ гемопозитических колоний в метилцеллюлозе. Для выяснения механизма действия дцРНК проводили анализ путей интернализации дцРНК при помощи блокаторов эндоцитоза, выделение фактора связывания дцРНК при помощи биотинилированного P32-дцРНК зонда. Анализ систем репарации двуцепочечных разрывов проводили при помощи вестерн-блот анализа белков, а регистрацию самих двуцепочечных разрывов проводили с помощью антител к гистону γ -H2aX.

Оценка достоверности результатов исследования показывает их высокую надежность и воспроизводимость, которая подтверждается использованием широкого спектра современных методов молекулярной и клеточной биологии, описанных выше, и данными независимых экспериментов. Результаты исследования статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в получении представленных в диссертации научных результатов, а также в подготовке публикаций.

В ходе защиты диссертации членом диссертационного совета д.б.н. Рубцовым Н.Б. было высказано критическое замечание относительно интерпретации данных, полученных наложением изображений конфокальной микроскопии и фазового контраста. Соискатель Риттер Г.С. ответил на все задаваемые ему в ходе заседания и дискуссии вопросы.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 13. «Изучение молекулярных, иммунологических, цитохимических и физиологических аспектов жизненного цикла клеток при экспериментальных (в том числе повреждающих) воздействиях. Изучение пролиферации клеток, старения и клеточной гибели.» и п. 14. «Исследование адаптации клеток и тканей к действию различных факторов внешней среды.» паспорта специальности 1.5.22. – клеточная биология (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 6 декабря 2023 г. принял решение присудить Риттеру Г.С. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной проблемы, связанной с изучением клеточных механизмов радиопротекторного действия двуцепочечной РНК при воздействии ионизирующего излучения.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 5 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 15, против – 1, недействительных бюллетеней – 2.

Зам. председателя диссертационного совета

Академик РАН, д.б.н.



А.В. Кочетов

Учёный секретарь диссертационного совета

доктор биологических наук

Т. М. Хлебодарова

06.12.2023 г.