

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 20 марта 2024 г. № 4

О присуждении Решетникову Василию Владимировичу

(гражданин РФ)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Решетникова В.В. «Изменение транскриптома и паттерна распределения эпигенетической модификации H3K4me3 под действием раннего постнатального стресса в префронтальной коре у самцов мышей» по специальности 1.5.7. – генетика, принята к защите 26.12.2023 г, протокол №41, 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», (ИЦиГ СО РАН) (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: Решетников Василий Владимирович, 15 апреля 1992 года рождения, в 2015 году окончил Факультет естественных наук Новосибирского государственного университета с присуждением степени

специалиста по направлению подготовки «биология». В 2019 году окончил очную аспирантуру ИЦиГ СО РАН по направлению подготовки «06.06.01 Биологические науки». В настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории регуляции экспрессии генов ИЦиГ СО РАН.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории регуляции экспрессии генов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения российской академии наук», г. Новосибирск.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Бондарь Наталья Петровна, заведующая сектором молекулярной нейробиологии стресса, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. Тихонова Мария Александровна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальных моделей нейродегенеративных процессов, ФГБУН «Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины», г. Новосибирск

2. Пчелина Софья Николаевна, доктор биологических наук, руководитель отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, ФГБОУ высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург, в своём положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, и.о. заведующего лабораторией

генетики высшей нервной деятельности, ведущим научным сотрудником Зачепило Татьяной Геннадьевной, и утвержденном директором ФГБНУ «Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук» Дюжиковой Н.А., указала, что «Диссертационная работа Решетникова В.В. «Изменение транскриптома и паттерна распределения эпигенетической модификации H3K4me3 под действием раннего постнатального стресса в префронтальной коре у самцов мышей» является целостным, законченным, научно-квалификационным трудом, выполненным автором самостоятельно. Полученные научные результаты имеют существенное значение для науки и практики. По актуальности темы, методическому и научному уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов, обоснованности научных положений и выводов диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК Министерства образования и науки РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам диссертант Решетников Василий Владимирович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. — генетика (биологические науки). Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Решетникова В.В. рассмотрен и одобрен на заседании лаборатории генетики высшей нервной деятельности Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук» 05 февраля 2024 года, протокол № 2.»

Соискатель имеет всего 47 опубликованных работ, из них по теме диссертации 24, общим объемом 175 страниц, из них 11 статей в рецензируемых научных изданиях (WoS, Scopus), и 13 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. **Reshetnikov, V. V.**, Ayriyants, K. A., Ryabushkina, Y. A., Sozonov, N. G., & Bondar, N. P. (2021). Sex-specific behavioral and structural alterations caused by early-life stress in C57BL/6 and BTBR mice. *Behavioural Brain Research*, 414, 113489. (IF=3.32)
2. **Решетников В.В.**, Бондарь Н.П. Роль изменений экспрессии Homer1 в чувствительности к стрессу. *Биохимия* 2021. – Т. 86. – №. 6. – С. 755-770. Перевод: Reshetnikov V. V., Bondar N. P. The Role of Stress-Induced Changes of Homer1 Expression in Stress Susceptibility //Biochemistry (Moscow). – 2021. – Т. 86. – №. 6. – С. 613-626. (IF=2.48)
3. **Reshetnikov, V. V.**, Kisaretova, P. E., Ershov, N. I., Merkulova, T. I., & Bondar, N. P. (2021). Social defeat stress in adult mice causes alterations in gene expression, alternative splicing, and the epigenetic landscape of H3K4me3 in the prefrontal cortex: an impact of early-life stress. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 106, 110068. (IF=5.06)
4. **Reshetnikov, V.**, Ryabushkina, Y., Kovner, A., Lepeshko, A., & Bondar, N. (2020). Repeated and single maternal separation specifically alter microglial morphology in the prefrontal cortex and neurogenesis in the hippocampus of 15-day-old male mice. *NeuroReport*, 31(18), 1256-1264. (IF=1.83)
5. **Reshetnikov, V. V.**, Kisaretova, P. E., Ershov, N. I., Merkulova, T. I., & Bondar, N. P. (2020). Data of correlation analysis between the density of H3K4me3 in promoters of genes and gene expression: Data from RNA-seq and ChIP-seq analyses of the murine prefrontal cortex. *Data in brief*, 33, 106365.
6. Antontseva, E., Bondar, N., **Reshetnikov, V.**, & Merkulova, T. (2020). The effects of chronic stress on brain myelination in humans and in various rodent models. *Neuroscience*, 441, 226-238. (IF=3.59)
7. Bondar, N., Bryzgalov, L., Ershov, N., Gusev, F., **Reshetnikov, V.**, Avgustinovich, D., Tenditnik, M., Rogaev E. & Merkulova, T. (2018). Molecular Adaptations to Social Defeat Stress and Induced Depression in Mice.

- Molecular neurobiology, 55(4), 3394-3407. (IF=5.59)
8. Bondar, N. P., Lepeshko, A. A., & **Reshetnikov, V. V.** (2018). Effects of early-life stress on social and anxiety-like behaviors in adult mice: sex-specific effects. *Behavioural neurology*, 1538931 (IF=3.34)
9. Ershov, N. I., Bondar, N. P., Lepeshko, A. A., **Reshetnikov, V. V.**, Ryabushkina, J. A., & Merkulova, T. I. (2018). Consequences of early life stress on genomic landscape of H3K4me3 in prefrontal cortex of adult mice. *BMC genomics*, 19(3), 93. (IF=3.96)
10. **Reshetnikov, V. V.**, Studenikina, A. A., Ryabushkina, J. A., Merkulova, T. I., & Bondar, N. P. (2018). The impact of early-life stress on the expression of HPA-associated genes in the adult murine brain. *Behaviour*, 155(2-3), 181-203.
11. **Решетников В. В.**, Лепешко, А. А., Рябушкина, Ю. А., Студеникина, А. А., Меркулова, Т. И., Бондарь, Н. П. Отсроченные эффекты раннего постнатального стресса на когнитивные способности и экспрессию генов глутаматергической системы у мышей //Нейрохимия. – 2018. – Т. 35. – №. 2. – С. 140-150. Перевод: **Reshetnikov, V. V.**, Lepeshko, A. A., Ryabushkina, Y. A., Studenikina, A. A., Merkulova, T. I., & Bondar, N. P. (2018). The long-term effects of early postnatal stress on cognitive abilities and expression of genes of the glutamatergic system in mice. *Neurochemical Journal*, 12(2), 142-151.

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

1) Саульская Н.Б. – д.б.н., доцент, научный руководитель группы нейрохимии высшей нервной деятельности, в.н.с. Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург

2) Кульдюшев Н.А. – доктор философии (Doctor of Philosophy), старший научный сотрудник Научного центра трансляционной медицины, Направления «Медицинская биотехнология» АНО ВО «Университет Сириус», г. Сочи

3) Ланшаков Д.А. – к.б.н., старший научный сотрудник сектора постгеномной нейробиологии ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск. «... возникли несколько вопросов: 1. Как или чем можно объяснить такое малое количество генов, которые изменили свою экспрессию, и в проксимальной близости от них была детектирована модификация гистона? 2. Есть ли взаимосвязь между увеличением уровня кортикостерона и повышением экспрессии генов регуляторов циркадных ритмов *Ciart* и *Dbp* в группе с сочетанием стрессов (ДО+СС)?».

4) Колосова Н.Г. – д.б.н., профессор, заведующая лабораторией молекулярных механизмов старения 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 нейробиологии и молекулярной биологии, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих учреждений по изучению поведения, высшей нервной деятельности и молекулярных механизмов стресса, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что ранний постнатальный стресс повышает у самцов мышей линии C57BL/6 чувствительность к хроническому стрессу социальных поражений, негативно влияет на активность генов глутаматергической системы в префронтальной коре головного мозга животных, связанных с процессами обучения, памяти и поведения, а в комбинации с социальным стрессом во взрослом возрасте нарушает экспрессию и профиль модификации метилирования гистона H3 по лизину 4 (H3K4me3) в промоторных районах ключевых генов циркадного ритма.

Высказана оригинальная гипотеза, что уровень транскрипции гена *Homer1*, кодирующего изоформу белка постсинаптической плотности *Homer1a*, может рассматриваться как молекулярный маркер ответа на ранний постнатальный стресс.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что, впервые проведен анализ отставленных эффектов раннего постнатального стресса (длительное отделение от матери) на экспрессию генов в префронтальной коре головного мозга у взрослых самцов мышей линии C57BL/6.

Показано, что ранний постнатальный стресс снижает уровень экспрессии генов синаптической пластичности *Pclo* и *Bdnf* и генов *Grin2a* и *Grin2b*, кодирующих субъединицы ионотропных NMDA рецепторов постсинаптической плотности, и повышает экспрессию генов *Mal*, *Mbp* и *Ugt8a*, белковые продукты которых участвуют в процессах миелинизации.

Показано, что сочетание стресса в ранний постнатальный период и стресса социальных поражений во взрослом возрасте приводит к изменению профиля транскрипции ключевых генов циркадных ритмов *Ciart*, *Dbp* и гена скаффолда *Homer1*, а также к изменению профиля гистоновой модификации H3K4me3 в генах циркадных ритмов *Per1*, *Dbp*, *Nr1d1* и гена глутаматной системы *Sorcs3*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что получены новые знания о молекулярно-генетических механизмах отставленной во времени гиперчувствительности к стрессу у самцов мышей линии C57BL/6 в результате стресса в раннем постнатальном периоде и негативном влиянии последнего на поведенческие и когнитивные способности взрослых мышей вследствие нарушения экспрессии целого ряда генов глутаматергической системы в префронтальной коре головного мозга.

Выявлены новые гены-мишени, экспрессия которых нарушается под действием раннего постнатального стресса, хронического стресса

социальных поражений или их комбинации, которые могут быть использованы заинтересованными исследователями для выбора мишеней терапевтических препаратов, корректирующих отставленные последствия раннего стресса.

Результаты диссертационной работы представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического и медицинского профиля, изучающих механизмы генетического контроля адаптации животных и человека к различным видам стресса и влияние последних на индивидуальное развитие и социальное поведение, которые могут быть использованы в фундаментальных и прикладных исследованиях, а также в образовательном процессе при подготовке специалистов в области общей, физиологической и медицинской генетики.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплексный подход с применением современных методов генетики поведения, молекулярной биологии и биоинформатики, включая высокопроизводительные методы секвенирования, такие как RNA-seq для оценки изменений в экспрессии генов и ChIP-seq для оценки эпигенетических изменений; тесты на распознавание нового объекта и водного лабиринта Морриса для оценки когнитивных способностей животных (памяти, обучения), тесты открытого поля и приподнятого крестообразного лабиринта для оценки индивидуального поведения животных (уровня тревожности, исследовательской и двигательной активности) и социального поведения; а также измерение концентрации кортикостерона в плазме крови мышей методом иммуноферментного анализа.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность, которая подтверждается разнообразием и адекватностью используемых подходов, корректной биоинформатической обработкой данных, использованием достаточного для получения репрезентативных результатов количества биологических реплик. Результаты транскриптомного анализа валидированы на расширенных

группах животных с помощью ПЦР в режиме реального времени, проведен корреляционный анализ экспрессии генов и распределения эпигенетической модификации $H3K4me3$. Результаты исследования статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями. При обсуждении результатов работы учитывались данные, полученные другими исследователями по данной тематике.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии автора в планировании и проведении всех экспериментов на животных, подготовке библиотек для RNA-seq и ChIP-seq анализа, подборе праймеров для проведения ПЦР и оптимизации условий проведения экспериментов, в анализе и интерпретации результатов транскриптомных и эпигеномных данных после биоинформатической обработки, анализе поведенческих данных, а также оформлении и публикации результатов. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно. Биоинформатическая обработка данных RNA-seq и ChIP-seq проведена к.б.н. Н.И. Ершовым (ФИЦ ИЦиГ СО РАН).

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п.8. «Эпигенетика: эпигеном/эпипротеом/эпитранскриптом. Импринтинг.», п. 9. «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Взаимодействие генов.» и п.10. «Молекулярно-генетические механизмы основных биологических процессов (развитие, дифференцировка, старение, иммунитет, работа нервной системы и др.). Генетика онтогенеза. Генетика пола.» паспорта специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Решетников В. В. аргументировано ответил на все задаваемые ему в ходе заседания вопросы.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых

степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

Диссертационный совет 20 марта 2024 г. принял решение присудить Решетникову В.В. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с выявлением молекулярно-генетических механизмов влияния раннего постнатального стресса на поведение и адаптацию к социальному стрессу во взрослом возрасте.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.7. – генетика, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 22, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

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



А.В. Кочетов

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

20.03.2024