

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Мелентьева Павла Алексеевича на тему «Функциональные аспекты роли гена *swiss cheese* в организме *Drosophila melanogaster*» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.7. Генетика

Исследование механизмов действия генов посредством анализа тканеспецифичности экспрессии и изучения фенотипа животных с нарушениями в работе того или иного гена все ещё является одним из самых актуальных направлений современной генетики. Одним из наиболее приспособленных для таких исследований объектов является *Drosophila melanogaster*. Использование ее в качестве модели обусловлено относительной простотой в разведении, широчайшим разнообразием доступных методических подходов при работе с ней и высокой эволюционной консервативностью ряда ее биологических систем, в том числе – нервной. Известно, что 75% генов человека, ассоциированных с определенными болезнями, имеют гомологичные последовательности у дрозофилы. В связи с чем использование *D. melanogaster*, с ее более просто организованным и адаптированным для экспериментальных манипуляций мозгом, для изучения механизмов, лежащих в основе нейродегенеративных заболеваний человека, является одним из перспективных подходов современной нейробиологии.

Диссертационная работа П.А. Мелентьева посвящена исследованию роли гена *sws* (*swiss cheese*), мутация которого вызывает у дрозофилы нарушения в структуре мозга по типу «дырок в швейцарском сыре». Целью работы было выявление функционально значимых аспектов действия этого гена у *D. melanogaster* с использованием методов молекулярной и классической генетики, цитогенетики, физиологии насекомых, а также – новейших методов геномного профилирования и протеомики. Работа изложена на 170 страницах и построена по классической схеме: «Введение», включающее обзор литературы, «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и «Выводы». Список литературы содержит 404 источника. Работа проиллюстрирована 53 рисунками и содержит 6 таблиц.

Во «Введении» обоснована актуальность и отражена степень разработанности темы исследования, включая любопытный экскурс в историю генетики дрозофилы, приводится развернутая характеристика гена *sws* и его ортологов у позвоночных и рассматриваются биохимические свойства белка SWS и его роль в регуляции внутриклеточных процессов, обеспечивающих стабильность мембран клетки и органелл. Следует отметить, что автор обладает глубокими и обширными знаниями круга проблем и литературы по избранной тематике. Цель и задачи исследования четко сформулированы, хотя формулировка пятой задачи кажется не очень удачной: с моей точки зрения, корректнее было бы начать ее со слов «Осуществить поиск возможного способа...» вместо «Найти возможный способ...». Во «Введении» также отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, степень достоверности и апробация результатов, публикации по теме диссертации.

В главе «Материалы и методы» изложена исчерпывающая характеристика использованных в работе линий дрозофилы, условий их содержания и постановки скрещиваний, очень подробно описаны методы исследования, в частности, молекулярно-генетические, физиологические и биохимические, транскриптомный и протеомный анализ, а также методы статистической обработки результатов.

В главах «Результаты» и «Обсуждение» приведены результаты собственных исследований автора и проведен их анализ с привлечением данных литературы. Экспериментальный материал изложен детально и хорошо проиллюстрирован рисунками. В работе впервые показана необходимость нормального функционирования гена *sws* для обеспечения нормальной плодовитости дрозофил и оценён его вклад в регуляцию продолжительности жизни, двигательной активности и морфологии мозга имаго. Впервые показана тканеспецифичность экспрессии гена *sws* в онтогенезе *D. melanogaster*. Продемонстрировано, что подавление экспрессии *sws* в нервных и глиальных клетках приводит к изменению в экспрессии ряда генов, в том числе – *Acyl-CoA binding protein* и *CG4716*, и изменению окислительно-восстановительного статуса клеток.

Данные диссертационной работы позволили автору заключить, что нормальная экспрессия гена *sws* необходима для целого комплекса взаимосвязанных физиологических процессов в нейронах. Результаты, полученные в работе, вносят вклад в понимание механизмов функционирования клеток нервной системы и основ патогенеза нейродегенеративных заболеваний, связанных с нарушениями в работе ортолога *sws*. Автором также предложена схема, отражающая обнаруженные им физиологические изменения в клетке, вызываемые подавленной функцией белка SWS.

Важно отметить, что в диссертационной работе показана пригодность и полезность *D. melanogaster* для моделирования нейродегенеративных заболеваний человека. В «Обсуждении» автор убедительно продемонстрировал, что результаты, полученные им на модельном объекте, хорошо согласуются с данными литературы, полученными на позвоночных. В то же время, проведение настолько многопланового исследования, как представленное в работе П.А. Мелентьева, на позвоночных связано с очень большими техническими сложностями, а моделирование в культуре ткани имеет серьезные ограничения, когда речь идет такой сложной структуре, как нервная система.

Все результаты, представленные на защиту, получены либо лично диссертантом, либо при его непосредственном участии, что подтверждается пятью статьями, опубликованными в рецензируемых изданиях, входящих в международные базы цитирования, а также – апробацией результатов работы на международных и российских конференциях. Достоверность представленных в диссертационной работе результатов и обоснованность выводов не вызывает сомнений. Результаты получены с использованием целого комплекса современных методов, внутренне непротиворечивы, подтверждаются данными литературы. Выводы работы соответствуют поставленным задачам и полностью обоснованы полученными результатами исследования.

К методическим недостаткам работы можно отнести использование только одного референсного гена при проведении ПЦР в реальном времени и только двух биологических повторов в транскриптомном анализе, а также использование в качестве контроля в транскриптомных и протеомных экспериментах линии дикого типа Canton S, а не родительских (по отношению к анализируемым гибридам) линий *elav-GAL4; UAS-sw-s-RNAi* и *NPS-GAL4; UAS-sw-s-RNAi*.

Также после прочтения текста диссертации остаются некоторые вопросы:

1. Почему ген *Acyl-CoA binding protein* называется автором исключительно *CG8628*?
2. Как именно регистрировали элементы полового поведения самцов дрозофилы? Судя по ссылкам, приведенным в работе, я предполагаю, что это делалось с использованием соответствующей программы, однако из описания метода в

диссертации это не очевидно, возможно предположить, что регистрация проводилась вручную.

3. Почему анализ протеома сделан на 20-суточных мухах, тогда как анализ транскриптома – на 30-суточных?

Данные вопросы и замечания носят дискуссионный характер и не отражаются на общей высокой положительной оценке диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая совокупность представленных в работе материалов, совершенно очевидно, что диссертация Мелентьева Павла Алексеевича на тему «Функциональные аспекты роли гена *swiss cheese* в организме *Drosophila melanogaster*» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете». Соискатель Мелентьев Павел Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Член диссертационного совета,
доктор биологических наук (03.00.09 – энтомология, 03.00.15 – генетика), доцент,
главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Груntenко Наталия Евгеньевна

12 апреля 2022 года

Адрес: 630090, Новосибирск, Россия, пр. акад. Лаврентьева, 10

Телефон: +7 (383) 363-49-63*3103

e-mail: nataly@bionet.nsc.ru



Личную подпись: Груntenко Н. В.
Закрываю

Нач. отдела кадров:

Савенкова

12.04.2022