

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию Борисенко Ильи Евгеньевича на тему: «Регенерация губок *Halisarca dujardini* (класс Demospongiae) и *Oscarella lobularis* (класс Homoscleromorpha): клеточные механизмы и участие сигнального каскада Wnt», представленную на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология

Способность к восстановлению поврежденных или утраченных частей тела – клеток, тканей или органов, в различной степени свойственна подавляющему большинству многоклеточных организмов. Однако регенеративный потенциал у представителей разных групп неодинаков. Существенно, а иногда радикально, отличаются и вовлеченные в процессы регенерации клеточные и молекулярные механизмы, детально исследованные лишь у весьма ограниченного числа видов, преимущественно модельных. Регенерация лежит в основе возникновения или является важнейшей составляющей очень широкого круга биологических феноменов, включая бесполое размножение и модулярность. С учетом теоретической и практической важности знаний о регенерации в целом, современное состояние исследований в этой области требует широких комплексных исследований с использованием как морфологических, так и молекулярных методик.

Хотя работы по изучению регенерации губок на морфологическом уровне ведутся с конца XIX века, исследования молекулярных механизмов были начаты лишь в последние несколько лет. В свете базального положения губок на филогенетическом древе Metazoa, детали восстановительных морфогенезов, включающих как поведение клеток, так и молекулярно-генетическую регуляцию, представляют большой интерес для эволюционной биологии. В морфологических работах было показано, что регенерация у разных видов губок отличается большим разнообразием. Однако для более глубокого сравнительного анализа необходима разработка новых модельных систем, позволяющих выявить общие и частные молекулярные механизмы, регулирующие восстановительные процессы.

В качестве таких моделей диссертант предлагает два вида губок, относящихся к разным классам – *Halisarca dujardini* (класс Demospongiae) и *Oscarella lobularis* (класс Homoscleromorpha). Оба вида являются объектами активного изучения двух школ спонгиологов, базирующихся в Санкт-Петербургском государственном университете и в Университете Марселя (Франция), соответственно. Регенерация у данных видов губок на электронно-микроскопическом уровне до сих пор не описывалась. Неисследованной оставалась и экспрессия генов, участвующих в регенерации. В соответствии с этим, целью диссертационной работы стало описание на ультраструктурном уровне клеточных

механизмов регенерации у двух упомянутых выше губок, а также изучение сигнального каскада Wnt, участвующего в регенерации *H. dujardinii*, включая идентификацию генов-участников в транскриптоме, и описание их экспрессии.

Диссертация изложена на 90 страницах на русском и 87 страницах на английском языках и включает Введение, три главы, Заключение, Выводы, Благодарности, Материалы и методы и Список литературы. Работа основана на шести публикациях автора в журналах, индексируемых в системах Web of Science и Scopus и одной статье в российском реферируемом журнале из списка ВАК и содержит 24 рисунка. Список литературы насчитывает 211 источников.

Глава 1 «Обзор литературы» подразделена на три части. Первая, «Клеточные и молекулярные механизмы регенерации у беспозвоночных», посвящена обсуждению восстановительных морфогенезов беспозвоночных на цитологическом и молекулярном уровнях. Для каждого типа животных – от стрекающих до хордовых, рассмотрен спектр известных восстановительных процессов и их молекулы-участники. Из этой главы читатель получает представление об актуальности и современном состоянии исследований данной проблемы. Во второй части «Обзора литературы» – «Роль сигнального пути Wnt в репаративных морфогенезах беспозвоночных», диссертант рассматривает участие Wnt-каскада в регенерации у модельных объектов, таких как гидра, дрозофила и планарии. В третьей части, «Клеточные и молекулярные механизмы регенерации у губок», на ультраструктурном уровне описаны восстановительные морфогенезы после экспериментальных повреждений у губок, а также приведены современные данные об их молекулярной регуляции.

В главе 2 «Клеточные механизмы регенерации у *Halisarca dujardinii* и *Oscarella lobularis*, представителей разных классов губок», автор приводит собственные экспериментальные данные по изучению процессов репаративной регенерации у двух видов губок из разных классов с помощью электронной микроскопии и анализа пролиферативной активности клеток с включением меченых предшественников. Диссертантом детально описаны этапы регенерации и отличия процессов у двух видов, и вклад деления клеток разных типов в регенерацию.

Глава 3 «Участие сигнального каскада Wnt в осевой спецификации осей губок и регенерации» является центральной в диссертации. В ней диссертант приводит данные по экспрессии генов Wnt у взрослых губок *H. dujardinii* и их личинок с помощью гибридизации *in situ*. В полученном автором транскриптоме идентифицированы компоненты сигнального пути Wnt, определено филогенетическое положение лигандов. Также с помощью гибридизации показаны паттерны экспрессии Wnt после экспериментального повреждения –

удаления фрагмента эктосомы *H. dujardini*, и в ходе развития после диссоциации губки на отдельные клетки. Визуализация экспрессии генов дополнена данными секвенирования РНК, позволяющими установить количественные отличия на разных стадиях.

Следует отметить, что каждая из приведенных выше трех глав содержит оригинальные результаты и их сравнительный анализ на основе сравнения с опубликованными данными из литературы. По сути, каждая глава является самостоятельной статьей.

В Заключении диссертант обобщает полученные данные. Далее следует раздел Выводы, которые не дублируют заключение. Обе заключительные части отличаются отменной краткостью, диссонирующей с подробным изложением в предыдущих главах. Кроме того, некий диссонанс вносит следующее противоречие между Заключением (стр. 73, фраза «источник клеток в т.ч. для регенерации – стабильно пролиферирующая популяция хоаноцитов.») и Выводами (стр. 76 «Активации пролиферации в [регенерационной] бластеме не происходит.») Хотелось бы услышать объяснение по данному поводу. Кроме того, удивляет, учитывая широкий анализ литературы, посвященной *Wnt*-signalling cascade, отсутствие в Заключении и Выводах каких либо эволюционных выводов или хотя бы рассуждений, позволяющих связать развитие губок и Eumetazoa. Хотелось бы услышать такие выводы на защите.

В Материалах и методах кратко описаны основные методы, использованные в работе. Хотелось бы отметить широкий спектр использованных диссертантом методов, примененных к немодельным объектам, в том числе – мечение ДНК в S-фазе клеточного цикла, секвенирование и анализ данных *in silico*, гибридизацию РНК *in situ*. Подробное описание методологий не приводится и ограничивается ссылками на первоисточники – опубликованные статьи диссертанта.

В целом, работа выстроена логично и последовательно. Тем не менее, как отмечает сам автор, многие вопросы, поставленные в результате анализа полученных данных – например, гены-мишени *Wnt*-каскада и его функциональная роль – требуют дальнейших исследований, что указывает на широкие перспективы для её дальнейшего развития.

Другие замечания к работе носят редакторский характер. В частности недостаточно тщательно оформлен список литературы – не выделены курсивом многие латинские названия, часто – не к месту использованы заглавные буквы и проч. В тексте есть как меченые предшественники и меченые нуклеотиды, так и меченые хоаноциты.

В целом же, представленное исследование выполнено на высоком международном уровне. Это касается, как его актуальности, так и использованной методологии и результатов. Диссертация И. Е. Борисенко имеет фундаментальное значение для изучения

клеточных и молекулярных механизмов регенерации и развития наших представлений о регуляторных механизмах в регенерации животных. Оригинальность и достоверность полученных данных, а также обоснованность сделанных в работе выводов сомнений не вызывает, что также подтверждается высоким уровнем журналов, в которых были опубликованы представленные результаты.

Диссертация Борисенко Ильи Евгеньевича на тему: «Регенерация губок *Halisarca dujardini* (класс Demospongiae) и *Oscarella lobularis* (класс Homoscleromorpha): клеточные механизмы и участие сигнального каскада Wnt» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Борисенко Илья Евгеньевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук,
профессор кафедры зоологии беспозвоночных
биологического факультета
Санкт-Петербургского государственного университета

Островский Андрей Николаевич

10.01.2022