

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Савватеевой-Поповой Елены Владимировны 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 специальности 1.5.7. Генетика

Ознакомление с текстом диссертации и стилем изложения заставляет задуматься о жанре сей работы – это жанр дифирамба. Дифирамб же согласно Википедии — «жанр древнегреческой хоровой лирики, дионисийский гимн; в общелексическом значении — экстатическая песня (поэзия, музыка) в возвышенном стиле». Поэтому обоснование Актуальности Темы в изложении автора – совершенно справедливый дифирамб дрозофиле как объекту современных исследований с изложением истории от Т. Моргана до наших дней. Автор справедливо утверждает, что «Учитывая рост актуальности изучения нейродегенеративных заболеваний, а также тот факт, что вероятность их развития повышается с возрастом, дрозофила является превосходной моделью, позволяющей в короткие сроки исследовать зависимые от возраста явления. Важно, что исследования этого модельного объекта могут быть проведены на разных уровнях: от молекулярного до организменного, что особенно ценно для биомедицинских работ». Именно это и указывает на практическую значимость.

Но что особо впечатляет в этой «экстатической песне» — это «хоровая песня», окутывающая историю выделения мутации, её названия *swiss cheese*, и изучения силами ученых из Германии, Швейцарии и теперь – России. Мистическим образом переплелись события вокруг *swiss cheese*. Когда-то давно, оппоненту пришлось давать отзыв Ведущего Учреждения Института Физиологии РАН на кандидатскую диссертацию руководителя этой работы Светланы Владимировны Саранцевой. А потом, с 1992 по 1998 гг., довелось работать на кафедре генетики и биологии развития в Университете Вюрцбурга, ФРГ, руководимой профессором Мартином Хайзенбергом. Он один из семи детей того Нобелевского лауреата, кого мы называем в русской транскрипции Вернер Гейзенберг, автора Принципа неопределенности Гейзенберга. Его сын Мартин сделал самую уникальную вещь в мире после введения в практику науки «мутационной хирургии», как назвал ее Сеймур Бензер. Если изначально Бензер проводил отбор мутантов дрозофилы по поведению, нарушению гео- и фототаксиса, мы – по нарушению нейрохимии мозга, то самое трудное сделал Мартин Хайзенберг – отбор мутантов по нарушению структур мозга дрозофилы. Для этого он изобрел специальные воротнички, так что на одном парафинизированном препарате можно было иметь срезы мозга от А до Я 14-ти или 16-ти мух. Соискатель совершенно справедливо цитирует эту пионерскую работу: Heisenberg, M. and Böhl, K., 1979. Isolation of anatomical brain mutants of *Drosophila* by histological means. *Zeitschrift für Naturforschung*. И в том скрининге был обнаружен тот самый мутант: Kretschmar, D., Hasan, G., Sharma, S., Heisenberg, M., Benzer, S. 1997. The *swiss cheese* mutant causes glial hyperwrapping and brain degeneration in *Drosophila*. *Journal of Neuroscience*, 17(19) :7425-7432. А почему

мутант так назван? Потому что в то время очень мощной группой у Хайзенберга была группа швейцарца Штефана Шнойли – Stephan Schneuwly. И в традиции кафедры было устраивать вечеринки, очередная была по получению Штефаном сыров из Швейцарии. Ни немцам, ни французам, никому были не ведомы эти сыры и способы их нарезки и приготовления. Мы бродили между столом, стендами и микроскопом, в полном восторге произнося только одно — *swiss cheese!!!!*

Российских дрозифилистов мало это трогает, никто и не говорит про *swiss cheese*, и только соискатель и его руководитель совпали по элегантности как изложения и изучения проблемы, так и по манерам и эстетике своего поведения с нашими начинателями – Мартином Хайзенбергом, Дагмар Кретчмер, Штефаном Шнойли. Думаю, они бы были рады ознакомиться с полученными соискателем результатами.

Невообразимо огромный объем применённых автором диссертационной работы методик исследования и полученных результатов создаёт впечатление, что рецензируешь работу на соискание степени вовсе не кандидата, но доктора наук. Как пишет автор, «... мы создали и охарактеризовали модель подавления функции кодируемого *sws* белка посредством нокдауна, вызванного интерференцией РНК. И попытались дифференцировать вклад нейронов и глии в фенотипы, ассоциированные с дисфункцией *sws* на основании анализа различных признаков: продолжительности жизни, локомоторной активности, морфологии мозга, количества различных молекулярных маркеров, экспрессии генов. Полученные данные позволили предложить гипотетическую схему молекулярных событий в клетке, происходящих при *sws*-ассоциированной нейродегенеративной патологии, и определить некоторые признаки, контролируемые нормальной экспрессией гена *sws* в разных типах клеток нервной системы». Совершенно справедливо автор отмечает, что «до проведения этой работы не было найдено достаточных причин, обуславливающих эволюционную консервативность гена *sws*. Поэтому мы охарактеризовали профиль экспрессии этого гена в онтогенезе, изучили жизнеспособность и плодовитость мутантов по гену *sws*, и выяснили, что сохранение нормальной функции гена обеспечивает приспособленность особей *Drosophila melanogaster*. Таким образом, настоящее исследование посвящено изучению различных аспектов жизнедеятельности *Drosophila melanogaster*, находящихся под контролем гена *sws*».

Диссертация изложена на 334 страницах, 170 страниц занимает русский вариант и 164 страницы – английский. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы, список сокращений, список цитируемой литературы. Список литературы включает 404 библиографические ссылки. Диссертация содержит 53 рисунка и 6 таблиц.

Ни один из семи выводов исследования не вызывает сомнения, так же, как и несомненны их достоверность и новизна.

Поэтому сожаление вызывает то, что соискатель не ссылается на классическую работу своего великого предшественника (см. Лобашев и др., 1973),

потому что на самом деле в диссертационной работе Мелентьева П.А., выпускника кафедры генетики и селекции, теперь генетики и биотехнологии СПбГУ, идёт речь о системной регуляции со стороны нейроэндокринной системы генетических и цитогенетических процессов в соответствии с требованиями среды, текущими потребностями организма и его индивидуальным опытом.

Еще один из вопросов — почему в работе применяется несколько экзотический метод анализа гистологических препаратов мозга, если в ультрафиолетовом свете мозг дрозофилы демонстрирует аутофлуоресценцию, что не требует какого-либо окрашивания срезов.

Далее – вопросы относительно того, что называется автором «обучаемостью» и «краткосрочной памятью». Естественно, что очень давно в лабораториях Института Физиологии РАН (лаборатории генетики ВНД и лаборатории сравнительной генетики поведения) хотели восполнить недостающее ещё у дрозофилы, но со времён М.Е.Лобашева уже изученное у пчелы – анализ способности к обучению. И тут нам помог Дэвид Судзуки, введший в практику генетики дрозофилы применение условных, в частности температурочувствительных, мутантов дрозофилы во время его визита в наши лаборатории. И прислал нам ещё не опубликованные статьи, цитируемые автором: Quinn et al., 1974. Мы воссоздали оба аппарата, как для обучения, так и ольфактометр для определения чувствительности к запахам. Ещё один важный момент, долго разрешаемый и Тимом Талли (Tully & Quinn, 1985) – чувствительность к электрошоку. Это подвело Талли при анализе мутантов с накоплением предшественника амилоидного белка – не удалось создать модель болезни Альцгеймера, поскольку дело было не в дефектности памяти, а в нечувствительности к электрошоку. Соискатель не приводит такого рода анализа. С Талли мы встречаемся в 1990 г. – сначала я была у него в МПТ, затем в 1994 г. он приехал к нам с Н.Г.Камышевым, и за неделю экскурсий и поисков фото и имён собак И.П.Павлова — ибо так он хотел назвать выделяемых им мутантов дрозофилы по долгосрочной памяти (описано им в Current Biology, 2004) — мы смогли много что обсудить касательно его методики. И сделали выводы. Ответьте на наш вопрос – где в природе дрозофилы встретится с электрошоком? Она что, замкнет своими лапками провода линий высоковольтной передачи? Где в природе столкнётся с запахами, которые чувствуем и мы? Ну а потом, в Германии, Тим Талли опять жил у меня (какая разница – переводить на английский с русского или немецкого). А на кафедре у Хайзенберга мы мучались с установкой Талли. Результат: *Drosophila conditioned courtship: two ways of testing memory*. Kamyshev NG, Piadi KG, Bragina JV. Learn Mem. 1999). Kamyshev et al., 1999 – ссылка на одного, как и на всех других – перечисленных в разделе «Материалы и методы» – отсутствует.

Ещё один вопрос – не кажется ли диссертанту, есть две вещи – learning acquisition and memory retention? Так вот опыт применения обеих или трех методик показывает, что замерять нужно показатели сразу после тренировки, затем – не ранее, чем через 1 час. В промежутке регистрируется процесс консолидации, через 30 мин изначальные показатели могут упасть до минимума. Поэтому вывод будет

ложным. Но очередной намеченный визит Тима Талли к нам запретил КОВИД-карантин.

По сути, предложенная и внедренная Н. Г. Камышевым полностью компьютеризированная методика оценки обучения и памяти опробована сотрудниками лаборатории нейрогенетики и в ФРГ, и во Франции. Московские институты присылают именно нам мух для проведения тестов. То же мы делаем и с двигательной активностью – 26–30 личинок или мух в течение часа под веб-камерами. Выход – полный анализ, сделанный нашими программами. Это приглашение к сотрудничеству с учетом высокой оценки диссертационной работы.

В итоге, остаётся уверенно добавить традиционные фразы: 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,
главный научный сотрудник,
заведующая лабораторией нейрогенетики Института физиологии им. И. П. Павлова РАН

Елена Владимировна Савватеева-Попова



19.05.2022