

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
Петри Наталии Дмитриевны
на тему: «Формирование лево-правого организатора в
нормальном развитии *X. laevis* и под воздействием ингибитора
форминов»
по специальности 1.5.23 Биология развития, эмбриология**

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа посвящена фундаментальному изучению формирования лево-правого организатора во время раннего развития шпорцевой лягушки *X. laevis*.

Изучение процессов определения осей тела эмбриона и, в том числе, формирования лево-правой оси является одним из актуальных направлений современной биологии развития. На сегодняшний день накоплено значительное количество данных, описывающих становление осей тела у зародышей различных позвоночных и беспозвоночных животных, однако формирование лево-правой оси в целом изучено намного хуже, чем дорсо-вентральной или передне-задней. Поэтому выявление молекулярно-биологических особенностей лево-правого организатора является актуальной задачей, поскольку многие аспекты данных процессов еще не ясны.

Достоверность и новизна результатов

Диссертация Петри Н.Д. представляет собой пример замечательного, актуального, выверенного и скрупулезно выполненного комплекса исследований. В данной работе с высокой степенью детализации рассматривается пространственно-временная динамика как морфологических изменений тканей и клеточных пластов, связанных с лево-правым организатором, так и динамика экспрессии соответствующих генов, таких как

dand5, *foxj1*, *lefty*, *myoD1*, *nodal1*, *sox17* и *tekt2*. Определено влияние ингибиторов форминов на формирование лево-правой оси.

Эксперименты проведены широким набором молекулярно-биологических методов, а также иммуоцитохимии и биохимии. Использовались современные методы, подобранные согласно поставленным задачам. Эксперименты выполнялись в нескольких повторностях. Контрольные эксперименты подобраны адекватно. Каждый результат подтверждался несколькими методами и разными подходами, что дает уверенность в их достоверности и точности.

Настоящая работа представляет собой хороший задел для дальнейших исследований в данной области.

Теоретическая значимость

Работа Петри Н.Д. носит фундаментальный характер, углубляя научные представления о формировании лево-правой оси в ходе эмбриогенеза у *X. laevis*.

На основе полученных результатов автором выдвинута гипотеза, объясняющая роль форминов в функционировании лево-правоого организатора.

Результаты работы открывают новые горизонты для дальнейших исследований механизмов, лежащих в основе формирования лево-правой оси.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, и выводов

Представленная работа хорошо спланирована. Эксперименты соответствуют поставленным задачам с использованием актуальных и современных методов биологии развития. Для выполнения работы было использовано современное оборудование. Был выполнен компетентный анализ полученных результатов. Материалы работы представлены на российских и международных конференциях и опубликованы в рецензируемых журналах.

Научные положения и выводы являются обоснованными, соответствуют поставленным задачам и являются логичными.

Оценка структуры и содержания диссертационной работы

Диссертация Петри Н.Д. построена по традиционному плану, с разделами: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список литературы из 85 источников. В работе 130 страниц машинописного текста, 30 рисунков, 3 таблицы.

Обзор литературы состоит из нескольких подглав, в которых автор описывает молекулярно-биологическую природу лево-правого организатора, а также различия в его формировании и функционировании у различных групп животных. Особенное внимание уделяется особенностям лево-правого организатора у шпорцевой лягушки *X. laevis*.

Раздел «Методология и методы» содержит описание методов, использованных в диссертационном исследовании – современные методы молекулярной биологии и цитологии, в том числе работа с РНК, ПЦР, молекулярное клонирование, гибридизация *in situ*, иммунофлуоресцентный анализ, электронная и конфокальная микроскопия.

Раздел «Результаты» содержит результаты экспериментальной работы, сопровождается иллюстрациями, четко подписанными.

В разделе «Обсуждение» автор строит гипотезы, подробно обсуждает полученные результаты в контексте мировых исследований.

Выводы работы четко соответствуют поставленным задачам и полученным экспериментальным результатам, обоснованы и корректно сформулированы.

Вопросы и замечания

Несмотря на позитивное впечатление от диссертации, к данной работе имеется ряд вопросов и замечаний.

При описании генов и белков зачастую неясно, какова их структура и функция, т.е. являются ли они секретруемыми морфогенами, транскрипционными факторами, регуляторами цитоскелета и т.п.

В обзоре литературы не везде понятен общий контекст молекулярных процессов, происходящих в зародыше. Например, известно, что *Lefty* подавляет экспрессию *nodal*. Однако, будучи секретруемым фактором, он, очевидно делает это не напрямую. Но автор не приводит молекулярный механизм этого ингибирования (стр. 12). В описании механического воздействия тока жидкости не указано, какой именно каскад активируется посредством кальциевых каналов (стр. 17). При описании спецификации поверхностной мезодермы (стр. 23) упоминается роль Wnt-каскада и серотонина, однако молекулярные механизмы их действия опять-таки не приводятся.

Разница между действием SMIFH2 на стадиях дробления и гастрული-нейрулы не обусловлена ли изменением проницаемости зародыщей для ингибитора? (стр. 87).

В разделе "Обсуждение" хотелось бы видеть перспективы дальнейших исследований.

Кроме того, есть целый ряд небольших замечаний:

Не везде унифицирована номенклатура генов – например *nodal3* (стр. 22) vs *Xnr3* (стр. 23), где-то названия одних и тех же генов написаны с большой буквы, а где-то с маленькой.

Не приводится ссылка на ключевую работу (Grande and Patel, Nature, 2009), в которой впервые приводятся данные о сигнальном каскаде Nodal у Lophotrochozoa и его участии в определении хиральности у гастропод, хотя в самом обзоре данный вопрос рассматривается (стр. 14).

Автор пишет, что "SMIFH2 способен ингибировать функции белков суперсемейства миозинов, а также влияет на концентрацию в клетках p53 и на

ЈАК - STAT сигналинг" (стр. 36), однако проверялась ли побочная активность данного ингибитора?

В одной из статей автора используется агонист форминов IMM-01, однако в диссертации он не фигурирует. Почему?

Автор утверждает, что по литературным данным "гетеротаксия органов является более тяжёлой патологией, чем полностью зеркальный относительно нормы организм" (стр. 90), однако ссылку на соответствующий источник не приводит.

Непривычно видеть перевернутые риунки, в которых дорсальная сторона снизу, а вентральная – сверху. Вообще, достаточно сложно понять с первого раза топологию приведенных на рисунках тканей, клеточных пластов, эксплантатов и пр.

Заключение

Диссертация Петри Н.Д. на тему «Формирование лево - правого организатора в нормальном развитии *X. laevis* и под воздействием ингибитора форминов» является законченной научно-квалификационной работой, в которой проведено комплексное исследование пространственно-временной динамики морфологии и молекулярно-генетической разметки лево-правого организатора, и роли ингибирования форминов в данных процессах.

Вышеуказанные вопросы и замечания носят рекомендательный характер и не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.23 Биология развития, эмбриология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание

ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Петри Наталия Дмитриевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.23 Биология развития, эмбриология.

Официальный оппонент: Ерошкин Федор Михайлович

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Государственный научный центр Российской Федерации Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

Ерошкин Федор Михайлович

06 декабря 2024 года

Контактные данные:

тел.: 7-916-947-1772, e-mail: xenopus.fe@gmail.com

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.01.03. – Молекулярная Биология

Адрес места работы:

117997, г. Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10,
ГНЦ ИБХ РАН, лаборатория молекулярных основ эмбриогенеза,
Тел.: +7-495-336-86-11; e-mail: eroshkin@ibch.ru

Подпись сотрудника ГНЦ ИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук Ф. М. Ерошкина удостоверяю:

Заместитель директора по научной работе ГНЦ ИБХ РАН им. М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, д.ф.-м.н., профессор

Р. Г. Ефремов