

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Кондукторовой Виктории
Владимировны**

**на тему: «Исследование временного и пространственного распределения
продуктов гена *germes* в овариальном фолликулогенезе *Xenopus laevis*»
по специальности 1.5.23 «Биология развития, эмбриология»**

Актуальность темы диссертации

Диссертационное исследование Кондукторовой Виктории Владимировны посвящено изучению и сравнению продуктов гена *Germes*, который является компонентом половой плазмы *Xenopus laevis*. Наследование материала половой плазмы отдельными клетками при дроблении зиготы формирует линию первичных половых клеток (ППК), которые являются тотипотентными клетками и несут в себе весь информационный потенциал для будущих поколений. Молекулярные детерминанты стволовых клеток обеспечивают их уникальное развитие и поддержание их тотипотентного состояния. Специфические РНК и белки, в том числе и *Germes*, локализуются в половой плазме и обеспечивают правильное формирование ППК, их деление и миграцию к половым валикам. Многие фундаментальные закономерности процессов становления, развития и дифференцировки ППК активно изучаются. ППК при детерминационном способе их формирования не являются таким же труднодоступным материалом, как возникшие индукционным путем, однако их молекулярно-генетические аспекты по-прежнему полностью не изучены. Многие аспекты влияния РНК и белков половой плазмы еще не раскрыты. Поэтому исследования в этой области являются актуальной задачей биологии развития.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, и выводов и их достоверность

Научные положения, выносимые на защиту, и выводы являются обоснованными и вытекают из полученных в ходе работы результатов.

Высокая степень достоверности результатов диссертации была обеспечена использованием разнообразных цитологических подходов и широким набором молекулярных методов. Так, были применены методы *in situ* гибридизации, ОТ-ПЦР, ПЦР в реальном времени, вестерн-блоттинга. Во многих этапах использовалось молекулярное клонирование, например для изготовления конструкций для получения и проверки антител, для поиска минимальных областей локализации 3'НТО РНК, подтверждения экспрессии гена среди некоторых видов амфибий. Эксперименты были выполнены в нескольких повторностях. Результаты были апробированы на нескольких российских конференциях с международным участием, в том числе с устными докладами. Все приведенные результаты опубликованы в профильном рецензируемом журнале «Онтогенез» в виде четырех печатных работ. В трех печатных изданиях соискатель является первым автором. Журнал рекомендован МГУ им. М.В. Ломоносова и ВАК.

Теоретическая и практическая значимость

Ценность работы прежде всего определяется теоретической значимостью полученных результатов, которые расширяют знания о гене половой плазмы *Germes*. Было выполнено комплексное исследование содержания продуктов гена в оогенезе и эмбриогенезе шпорцевой лягушки. Автором также было обнаружено наличие продуктов гена, РНК и белка, в соматическом компартменте яичника, что расширяет общие представления об экспрессии маркера половой плазмы и ППК. Важной составляющей работы был анализ распространенности гена среди животных с детерминационным способом формирования половых клеток. Полученные сведения позволяют шире посмотреть на процесс фолликулогенеза и образование ППК у амфибий.

Согласно транскриптомному анализу 80% генов ППК у *Xenopus* и у человека консервативны. И хотя изучаемый ген минорный, молекулярно-биологические каскады, в которых он участвует могут быть общие с человеком. *Xenopus* может быть потенциально полезным модельным

объектом для изучения ППК человека, поскольку эти клетки можно использовать *in vitro* для изучения детерминантов поддержания плюрипотентного состояния. Возможно, раскрытие механизмов спецификации и дифференцировки половых клеток при детерминационном способе откроет больше общих закономерностей с индукционным типом, что будет актуально как в области биологии, так и в медицине.

Новизна результатов

В работе Кондукторовой В.В. впервые продемонстрировано наличие экспрессии гена половой плазмы не только в ооците, но и фолликулярных клетках. Данные результаты позволяют предположить иные функции белка в соматической линии, а не только известные ранее в поддержании и становлении зародышевой линии *Xenopus*. Более того, автор исследовал присутствие и активность целевого гена среди других животных, имеющих половую плазму. Неожиданностью оказалась его представленность лишь внутри одного семейства бесхвостых амфибий. Результаты экспериментов и выводы предполагают новые возможности как исследованного гена *Germes*, так и исследования других генов половой плазмы и половых клеток в соматических клетках фолликула, их функций и других аспектов влияния на фолликулогенез в целом.

Оценка структуры и содержания диссертационной работы

Диссертационная работа Кондукторовой В. В. построена по традиционному плану, содержит список используемых сокращений, Введение, Обзор литературы, Методология и методы исследования, Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы, Публикации и Список литературы. Работа изложена на 155 страницах машинописного текста, содержит 21 рисунок и 2 таблицы, список литературы состоит из 314 источников.

«Обзор литературы» состоит из нескольких пунктов. Автор приводит данные как морфологии фолликулогенеза, так и молекулярно-биологических

составляющих этого процесса. В обзоре приводятся суммарные данные о фолликулярных клетках и их необходимых функциях для поддержания оогенеза. Следует заметить, что исследований фолликулярных клеток проводится немного, а часть обзора, посвященная им, является цельным, многосторонним и систематизированным материалом.

Раздел «Методология и методы» содержит развернутое описание методов, использованных в диссертационном исследовании. В работе использовались разнообразные методы как молекулярной биологии, так и клеточной биологии, элементы биоинформатики, адекватные задачам исследования. Автор также подробно описывает получение поликлональных антител. Соискатель работал с разными животными при выполнении работы, а также ставил эксперименты как *in vitro*, так и *in vivo*.

В главе «Результаты» соискатель подробно описывает и наглядно иллюстрирует все результаты проведенного исследования. Все приведенные рисунки описаны. Глава состоит из 4 разделов. Автор приводит сравнение времени содержания РНК и белка на протяжении всего оогенеза и раннего развития. Затем приведены результаты анализа последовательности белка и 3'НТО РНК. В 3'НТО РНК исследованы и показаны мотивы для локализации РНК в митохондриальное облако и на вегетативный полюс ооцита. Отдельная глава посвящена изучению экспрессии гена *Germes* в фолликулярной оболочке ооцита. Последний раздел посвящен анализу распространенности гена среди животных, в частности, амфибий.

В разделе «Обсуждение» проводится разносторонний анализ полученных результатов, выдвигаются различные предположения и интерпретации. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. «Заключение» суммирует полученные результаты.

Автореферат соответствует тексту диссертации и отражает все основные результаты.

Замечания

Серьезных замечаний нет. Работа содержит очень мало опечаток. Встречаются неточности и жаргонизмы.

1. Стр. 9 «область в цитоплазме ооцита, которая **отмешивается** от цитозоля». Следует написать обособляется.
2. «около 20 РНК и белков, составляющих ПП и ППК.» РНК и белки не могут составлять ППК
3. «Согласно транскриптомному анализу, ПП содержит примерно в 2 раза больше РНК и белков». Транскриптомный анализ оценивает только РНК. Что означает в 2 раза больше? 40 транскриптов?
4. «РНК *germes* была впервые идентифицирована **нами**». Сколько лет было диссертантке в 2003 г.?
5. Стр. 14 «опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных изданиях». Издание одно – журнал «Онтогенез»
6. Стр. 21 ссылка на рис. 2 не соответствует (надо рис. 3). Не нашел в тексте ссылку на рис. 2.
7. Получение антител можно было бы смело перенести в результаты.
8. Стр. 80, стр. 119. Название публикаций следует давать на языке оригинала.
9. Стр. 107. «генов, **локализующихся на** вегетативный полюс».
10. Стр. 108 «временную и пространственную **картину** РНК.»
11. Стр. 154 В ссылке №312 ошибка: вместо 2055 надо 2005

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания 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 Кондукторова Виктория Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.23 «Биология развития, эмбриология».

Официальный оппонент: Егоров Егор Евгеньевич

доктор биологических наук, профессор
ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных основ развития
злокачественных заболеваний
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

Егоров Егор Евгеньевич

29 февраля 2024г.

Контактные данные:

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.00.03. - Молекулярная биология, 03.00.25 - Гистология, цитология,
клеточная биология

Адрес места работы:

119991, г. Москва, ГСП-1, ул. Вавилова, д. 32.

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской
академии наук, лаборатория клеточных основ развития злокачественных
заболеваний.

Подпись сотрудника Е.Е. Егорова удостоверяю

Ученый секретарь ИМБ РАН, к.в.б.

А.А. Бочаров