

**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**

Диссертационная работа посвящена фундаментальному изучению локализации и содержания продуктов гена половой плазмы *germes* во время оогенеза и раннего развития шпорцевой лягушки.

Наличие половой плазмы у бесхвостых амфибий довольно давно известно, и накоплено множество результатов в данной области. Однако интерес к исследованию половой плазмы и связанное с ней формирование первичных половых клеток не угасает и по сей день. Выявление молекулярно-биологических особенностей половой плазмы и первичных половых клеток является актуальной задачей, поскольку многие аспекты данных процессов еще не ясны.

**Достоверность и новизна результатов**

Экспрессия гена и его трансляция в раннем развитии могут быть разнесены во времени. Работа Кондукторовой В. В. выполнена на обоих продуктах гена, проведена оценка как мРНК, так и белка. В данной диссертации проведено временное сравнение продуктов гена, результаты которого подчеркивают разницу в содержании РНК и белка в эмбриогенезе шпорцевой лягушки.

Хочется подчеркнуть, что автор самостоятельно получила антитела против белка *Germes*. Получение антител является непростой задачей и требует скрупулезной и долгой работы.

В литературе обычно встречаются данные исследования только оогенеза. Исследования, проведенные Кондукторовой В.В. комплексные, они выполнены на системе ооцит-фолликулярные клетки, в которых экспрессируется интересующий ген. Следует отметить, фолликулярные клетки - тонкий однослойный эпителий, поэтому набор достаточного количества материала для молекулярно-биологического анализа представляло сложность для работы. Тем самым, показывает автора как хорошего специалиста в этой области, владеющего тонкими микрохирургическими техниками.

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. Особенный интерес представляет тот факт, что помимо участия в формировании половой линии шпорцевой лягушки, рассматриваемый ген также экспрессируется и в соматических клетках фолликула. Экспрессия в фолликулярных клетках не описана ни для одного другого маркера половой плазмы. Кроме того, автором рассмотрен феномен, когда эволюционно новый ген сразу занимает важное место в консервативном механизме, коим является процесс детерминации первичных половых клеток.

### **Теоретическая значимость**

Работа Кондукторовой В. В. носит фундаментальный характер, углубляя научные представления об экспрессии гена половой плазмы, который оказывает свое влияние на становление линии половых клеток у



*X. laevis*. Результаты работы открывают новые горизонты для исследования дальнейших функций гена *germes* в половой плазме и фолликулярных клетках, поиска белковых партнеров как в половых клетках, так и в соматических.

### **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 рецензируемом журнале. Научные положения и выводы являются обоснованными, соответствуют поставленным задачам и являются логичными.

### **Оценка структуры и содержания диссертационной работы**

Диссертация Кондукторовой В. В., построена по традиционному плану, с разделами: список используемых сокращений, введение, обзор литературы, методология и методы исследования, результаты, обсуждение, заключение, выводы, публикации и список литературы из 314 источников. В работе 155 страниц машинописного текста, 21 рисунок, 2 таблицы.

Обзор литературы состоит из нескольких подглав, в которых автор описывает морфологию фолликула и его развитие, формирование и молекулярный состав половой плазмы и первичных половых клеток, детально описаны функции фолликулярных клеток. Обзор охватывает разноплановое описание всей системы ооцит-фолликулярные клетки.

Раздел «Методология и методы» содержит описание методов, использованных в диссертационном исследовании – современные методы молекулярной биологии и цитологии, в том числе молекулярное клонирование, работа с РНК, ПЦР, Вестерн-блоттинг, электронная и конфокальная микроскопия, гибридизация *in situ*, биоинформатический анализ. В качестве объектов исследования были взяты несколько видов бесхвостых амфибий семейства Pipidae.

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

В разделе «Обсуждение» автор подробно обсуждает полученные результаты, строит гипотезы, а также ставит новые задачи для будущих исследований.

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

### **Вопросы и замечания**

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

Каковы функции гена *Germes* и соответствующего белка в раннем эмбриогенезе? Хотя в цели и задачи данной работы не входит анализ функций *Germes* в раннем развитии, тем не менее, определенные предположения можно сделать, опираясь на литературные источники и результаты самой работы. Хотя в диссертации затрагивается вопрос функций белка *Germes* (например, на стр. 29, 101, 111-113) хотелось бы, чтобы данный вопрос был рассмотрен более артикулированно.

Аналогично, возникает вопрос об эволюционном происхождении рассматриваемого гена. То, что новый ген и кодируемый им белок сразу вошел в очень консервативный механизм детерминации первичных половых клеток, является редким явлением и заслуживает более подробного рассмотрения. Автор предполагает вирусный перенос гена (стр. 114-115), однако, это не дает ответа на вопрос происхождения самой кодирующей последовательности. Хотелось бы узнать предположения автора по данному вопросу. Кроме того, скрупулезный анализ фланкирующих геномных последовательностей, в частности, на следы вирусной или транспозонной ДНК, возможно, мог бы пролить свет на данный вопрос.

Кроме того есть целый ряд небольших замечаний:

Отсутствуют в списке сокращений следующие аббревиатуры: BMP (стр. 25) ВГ, ФСГ, ЛГ, ГнРГ, ФСГР, ЛГР, Пг (стр. 41- 47), LZ (стр. 105), хотя расшифровка присутствует в самом тексте.

Название гена *nanos* приведено не курсивом (стр. 28).

Неясно значение термина "сайленсинг" (стр. 29). Из контекста следует, что речь идет не о регуляторных цис-элементах (сайленсерах), но неясно, имеется в виду эффект РНК-интерференции, или более общее понятие генного нокдауна?

"вторые мессенджеры" – имеются в виду вторичные мессенджеры (стр. 38?)

Вместо анализ элементов локализации 3'НТО приведена методика инъекций в ооциты (стр. 71).

Эксперименты по определению уровня белка (стр. 85-86) – неясно, на что нормировали значения, на уровень РНК или белка GAPDH, и как считали статистику?



Эксперименты по обнаружению несплайсированной РНК (стр. 100-101): можно было бы подобрать праймеры на стыки экзона-интрона, не амплифицирующие с гДНК.

Фрагмент раздела "Осуждение", посвященное получению антител (стр. 108-109), было бы уместно перенести в раздел "Результаты".

В списке литературы русскоязычные ссылки приводятся в конце списка, тогда как более традиционным является вариант с русскоязычными ссылками в начале списка.

### **Заключение**

Диссертация Кондукторовой Виктории Владимировны на тему «Исследование временного и пространственного распределения продуктов гена *germes* в овариальном фолликулогенезе *Xenopus laevis*» является законченной научно-квалификационной работой, в которой проведено комплексное сравнительное исследование содержания и локализации РНК и белка *Germes* в течение оогенеза как в самом ооците, так и окружающих его фолликулярных клетках, а также и во время эмбрионального развития. Проведен широкий поиск распространенности гена, который был обнаружен только внутри семейства Pipidae в двух родах из четырех.

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 Кондукторова Виктория Владимировна 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

Государственный Научный Центр Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

Ерошкин Федор Михайлович

08 марта 2024 г.

ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ ИБХ РАН  
ДОМН В.А. ОЛЕЙНИКОВ



08.04.2024

Контактные данные:

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,  
ИБХ РАН, лаборатория молекулярных основ эмбриогенеза,