

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,**  
созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения  
науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и  
Ю.А. Овчинникова Российской академии наук  
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 23 сентября 2020 г. №27

О присуждении **Коротковой Дарьи Дмитриевне**, гражданке РФ,  
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль нового белка холоднокровных c-Answer в регуляции пуринаргического и FGF сигнальных путей при регенерации и в развитии мозга» по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология принята к защите 26 февраля 2020 г. (протокол заседания №6) диссертационным советом Д 002.019.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук, 117997, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, действующим на основании приказа Минобрнауки России №75/нк от 15 февраля 2015 года.

Соискатель Короткова Дарья Дмитриевна 1996 года рождения, в 2019 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». В настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор биологических наук **Зарайский Андрей Георгиевич**, заведующий лабораторией молекулярных основ эмбриогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

**Григорян Элеонора Норайровна**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории «Проблемы регенерации» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук и **Пантелеев Андрей Александрович**, кандидат биологических наук, руководитель лаборатории Биосовместимых матриц и тканевой инженерии, НИЦ “Курчатовский Институт”, Центр НБИКС Технологий дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ имени М.В.Ломоносова), Москва, в своем *положительном* заключении, подписанном д.б.н., чл.-корр. РАН, заведующим кафедрой эмбриологии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова Васильевым Андреем Валентиновичем и утвержденном проректором - начальником Управления научной политики МГУ имени М.В.Ломоносова д.ф.-м.н. Федяниным Андреем Анатольевичем, указала, что диссертационная работа Коротковой Дарьи Дмитриевны является завершенной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г.



№ 748), а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03. – молекулярная биология.

Соискатель имеет 6 печатных работ, в том числе по теме диссертации 6 работ (общим объемом 7 печ.л.), опубликованных в рецензируемых научных изданиях, цитируемых базами данных Web of Science и Scopus. Научные работы по теме диссертации, в которые Короткова Д.Д. внесла основной или существенный вклад:

1. **Korotkova D.D.**, Lyubetsky V.A., Ivanova A.S., Rubanov L.I., Seliverstov A.V., Zverkov O.A., Martynova N.Y., Nesterenko A.M., Tereshina M.B., Peshkin L., Zaisky A.G. Bioinformatics screening of genes specific for well-regenerating vertebrates reveals c-answer, a regulator of brain development and regeneration. *Cell Reports*. 2019. 29, 1027–1040
2. Tereshina M.B., Ivanova A. S., Eroshkin F.M., **Korotkova D.D.**, Nesterenko A.M., Bayramov A.V., Solovieva E.A., Parshina E.A., Orlov E.E., Martynova N.Y., Zaisky A.G. Agr2- interacting Prod1-like protein Tfp4 from *Xenopus laevis* is necessary for early forebrain and eye development as well as for the tadpole appendage regeneration. *Genesis*. 2019. 57(5):e23293
3. Ivanova A.S., **Korotkova D.D.**, Ermakova G.V., Martynova N.Y., Zaisky A.G., Tereshina M.B. Ras-dva small GTPases lost during evolution of amniotes regulate regeneration in anamniotes. *Scientific Reports*. 2018. 8(1):13035
4. Иванова А.С., **Короткова Д.Д.**, Мартынова Н.Ю., Аверьянова О.В., Зарайский А.Г., Терешина М.Б. Способы специфичного подавления работы генов *in vivo* при помощи морфолиновых и *in vivo*-морфолиновых олигонуклеотидов. *Биоорганическая химия*. 2018. 44(3):358–361
5. Ерошкин Ф.М., Мартынова Н.Ю., Байрамов А.В, Ермакова Г.В., Иванова А.С., **Короткова Д.Д.**, Зарайский А.Г. Взаимодействие секретируемого фактора Agr2 с его потенциальными рецепторами из семейства трехпетельных белков. *Биоорганическая химия*. 2017. 43(3):330–332
6. Nesterenko A.M., Kuznetsov M.V., **Korotkova D.D.**, Zaisky A.G. Morphogene adsorption as a Turing instability regulator: Theoretical analysis and possible applications in multicellular embryonic systems. *PLOS One*. 2017. 12(2):e0171212

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. **Официального оппонента д.б.н. Григорян Элеоноры Норайровны.** Отзыв положительный, содержит следующие замечания и пожелания: **1).** Не мешало ли распознаванию специфического сигнала при гибридизации *in situ* наличие пигментированных клеток – меланофоров, присутствующих в регенерирующей ткани? **2).** Были ли сделаны попытки измерений с помощью

компьютера при исследовании полученных изображений развивающихся эмбрионов лягушки, выборка для подобного рода вычислений представляется вполне достаточной. 3). В целом данные свидетельствуют о восстановлении при инъекции мРНК *c-answer* регенерационной способности на той стадии развития головастика, когда регенерация «в норме» уже подавлена. Приводится морфологическая картинка и гистограмма. В совокупности с результатами проведенной параллельно количественной ПЦР данные выглядят в достаточной мере убедительно, а существующие разбросы получаемых морфологических эффектов могут быть вызваны широким рядом причин, обсуждение которых неплохо было бы включить в раздел «Обсуждение».

## **2. Официального оппонента к.б.н. Пантелеева Андрея Александровича.**

Отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1). При оценке влияния уровня активности *c-answer* на экспрессию генов, регулирующих регенерацию, для анализа было выбрано 8 генов: *fgf20*, *ag1*, *wnt5a*, *ras-dval*, *fgf8* и *msx1b*. Эти гены, безусловно, определённым образом связаны с регенерацией у земноводных, однако, пожалуй, только *wnt5a* является классическим «маркёром» этого процесса. В экспрессионный анализ было бы полезно так же включить гены из сигнальных каскадов Notch, BMP, TGFβ или Shh. 2). В работе (для подтверждения изменений в активности Fgf каскада) оценивалось влияние *c-Answer* только на Erk киназу, хотя (в плане регенерации) оценка воздействия на PI3K могла бы быть даже более показательной. Рационального объяснения почему для анализа было выбрано именно (и только) фосфорилирование Erk в тексте не приводится. 3). Не совсем ясными остаются также и основания для выбора пуриnergического сигнального пути в качестве одной из двух основных мишеней активности *c-answer*. Вопросов по поводу выбора FGFR4 нет, а вот чёткого объяснения логики выбора P2gu1 в тексте не приводится (хотя этот выбор, судя по результатам, сделан был совершенно верно). 4). Присутствуют ли транскрипты *c-answer* в эпидермисе до ампутации? Автором показано, что



экспрессия *c-answer* «наиболее выражена» в дорсальной эктодерме (presumptive neuroectoderm?). А имеет ли она место (пусть менее выражено) в покровной эктодерме (presumptive epidermis)? **5).** Интересно осуществить генетическое профилирование тканей головастика при подавлении и активации транскрипции/трансляции *c-answer* методами гибридизации на микрочипах (microarray) или высокопроизводительного параллельного секвенирования РНК (RNA-Seq).

**3. Отзыв ведущей организации.** Отзыв положительный, содержит следующие пожелания: **1).** Интересно проследить активность исследованного белка при частичной утрате регенерационной способности в процессе регенерации конечности в пострефрактерный период онтогенеза у шпорцевой лягушки – непосредственно перед метаморфозом и далее. **2).** Хотелось бы видеть список сокращений в начале работы. В главе Материалы и методы лучше было бы соединить характеристику объекта и манипуляции с ним, не разбивая изложение описанием других методов. Не следует употреблять выражение «экспрессия белков» - экспрессируется ген.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области молекулярной биологии и эмбриологии, которые подтверждены публикациями в ведущих российских и международных журналах. Тематика работ официального оппонента Григорян Э.Н. касается регенерации тканей глаза и конечности у амфибий, клеточных и молекулярно-генетических механизмов регенерации. Тематика работ официального оппонента Пантелеева А.А. касается механизмов регенерации тканей млекопитающих и человека; биологии кожных покровов, биоинженерии эпителиальных тканей. Коллектив ведущей организации занимается вопросами формирования нервной системы в процессе эмбрионального развития, а также регенерации придатков тела, работа проводится в том числе на модели холоднокровных позвоночных. Высокая квалификация, большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им

объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает новизну результатов, полученных соискателем. Впервые был описан и изучен открытый д.б.н. Зарайским А.Г. отсутствующий у теплокровных ген *c-answer*. Впервые было показано, что ген *c-answer* оказывает стимулирующее действие на активность пуринаргического и FGF сигнальных путей - важных регуляторов развития мозга и регенерации.

Теоретическая значимость исследования состоит в том, что полученные данные по исчезнувшему у теплокровных гену *c-answer* подтверждают выдвинутую ранее в лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза ИБХ РАН гипотезу о том, что исчезновение или появление генов-модуляторов важных сигнальных путей в процессе эволюции могло обусловить прогрессивное развитие мозга и потерю способности к регенерации крупных придатков тела у теплокровных позвоночных. Полученные данные открывают дорогу для дальнейшего выявления исчезнувших или появившихся в процессе эволюции позвоночных генов и изучения функциональной взаимосвязи эти генов.

Полученные соискателем результаты исследования имеют также и практическое значение. Описанный ген является модулятором важных сигнальных каскадов, участвующих не только в процессах раннего эмбрионального развития, но и в ходе регенерации тканей и органов взрослого организма, а также при активации стволовых клеток в процессах онкогенеза. Поэтому данные о функционировании *c-answer* имеют ценность для биомедицины, поскольку могут быть использованы при разработке методов лечения травм, нейродегенеративных заболеваний, злокачественных новообразований, а также заболеваний, связанных с нарушением в работе FGFRs и P2ry1 рецепторов.

Достоверность полученных в ходе исследования результатов не вызывает сомнений: результаты экспериментальных работ были получены на



сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях, а собранные данные обработаны с применением соответствующих методов статистического анализа. Все необходимые контрольные эксперименты были проведены.

Личный вклад соискателя состоит в планировании и выполнении экспериментов, обработке полученных данных и обобщении результатов. Результаты, представленные в диссертационной работе получены лично Коротковой Д.Д., за исключением использованного в работе широкомасштабного биоинформатического подхода для идентификации генов, утраченных в эволюции (разработан Зарайским А.Г. совместно с сотрудниками лаборатории математических методов и моделей в биоинформатике ИППИ РАН) и получения плазмидной конструкции P2ry1, предоставленной нам К. Massé, Университет Бордо. Автор лично представлял результаты на российских и международных конференциях, а также принимал непосредственное активное участие в написании и подготовке к печати публикаций, включающих основные результаты, представленные в работе.

На основании вышеизложенного диссертационный совет заключает, что диссертация Коротковой Д.Д. является законченной научно-квалификационной работой, результаты которой имеют важное значение для развития молекулярной биологии и эмбриологии. Работа написана автором самостоятельно и содержит новые и актуальные научные результаты. Таким образом, диссертационная работа Коротковой Дарьи Дмитриевны соответствует всем требованиям (в т.ч. п.9), предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748).

На заседании 23 сентября 2020 г. диссертационный совет принял

решение присудить Коротковой Дарье Дмитриевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 4 докторов наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета  
академик РАН, д.х.н.

Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета  
д.ф.-м.н.

Олейников В.А.

24 сентября 2020 г.

