

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Орлова Евгения Евгеньевича на тему

«Секретируемая металлопротеиназа *Mmp3* как регулятор скейлинга системы морфогенетических градиентов белков BMP/Chordin/Noggin в раннем эмбриогенезе шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – «Молекулярная биология».

Предлагаемая к рассмотрению работа Евгения Евгеньевича Орлова посвящена изучению известного феномена эмбриональной регуляции. Суть этого феномена заключается в способности ранних эмбрионов многих организмов сохранять нормальное развитие при разделении эмбрионов на две и более части. В своей работе Е.Е. Орлов исходит из предположения, что в основе механизмов эмбриональной регуляции могут лежать определенные молекулы-регуляторы, «скейлеры». Изменяя свою концентрацию в разделенных частях эмбрионов в широких пределах, они способствуют модуляции морфогенетических градиентов таким образом, что основные эмбриональные зачатки частичных эмбрионов изменяются пропорционально размеру. Это предположение первоначально подтверждено *in silico* на моделях регуляций градиентов морфогенов. Далее в работе проводится экспериментальное подтверждение гипотезы с помощью вычитающего секвенирования мРНК целых и разделенных эмбрионов шпорцевой лягушки. Я бы хотел особо отметить высокое техническое мастерство в работе с эмбриональным объектом, которое потребовалось проявить авторам работы для того, чтобы успешно разделять дробящиеся эмбрионы лягушки, сохранив их живыми и вполне нормально развивающимися. Среди полученного списка генов выбран наиболее, по мнению автора, подходящий на роль модулятора кандидат – ген матриксной металлопротеиназы-3 (*mmp3*), который «выключался» в уменьшенных эмбрионах. Далее, с помощью нокдауна гена матриксной металлопротеиназы-3 в неразделенных эмбрионах показано, что этот ген ответственен на дорзо-вентральную разметку, и это изменение разметки сходно с таковым у частичных эмбрионов, а восстановление высокой экспрессии *mmp3* в уменьшенных эмбрионах восстанавливало разметку оси как в больших эмбрионах. Эти опыты, безусловно, подтверждают выдвинутую гипотезу о возможности существования «скейлеров» в саморегулирующихся эмбрионах.

Автор, однако, не ограничивается лишь генетическими экспериментами. Ему удалось обнаружить два субстрата *mmp3*: белки семейства Noggin и протеазу Tolloid-like1, для которой субстрат в эмбрионах шпорцевой лягушки уже показан – белок Chordin. И Noggin, и Chordin – секретируемые антагонисты BMP-каскада, активного участника дорзо-вентральной разметки. Совместное и одиночное выключение генов *mmp3*, *noggin1/2*, *tolloid-like1* и *chordin* в работе показывает, что оба антагониста отвечают за свои отдельные аспекты дорзо-вентральной переразметки: *noggin1/2* отвечает преимущественно за утолщение хорды в маленьких эмбрионах (пока трудно объяснимый феномен, названный в работе «антискейлингом»), а *chordin* за сужение латеральных областей дорзо-вентральной оси. В работе дается вполне убедительное объяснение наблюдаемым эффектам: белки *Noggin1/2* малоподвижны, и накапливаются в области хорды в уменьшенных эмбрионах, тогда как Chordin гораздо более мобильный белок, и падение его концентрации распространяется на всю латеральную зону. Таким образом, предположение о наличии «скейлеров», в развитии шпорцевой лягушки можно признать экспериментально подтвержденным.

Диссертационную работу Е.Е. Орлова я считаю выдающимся, великолепно выполненным, завершённым исследованием. Результаты работы опубликованы в 10 статьях и 7 тезисах научных конференций. Среди публикаций есть опубликованные в высокорейтинговых журналах, что также свидетельствует об актуальности поднятой в работе проблемы.

Таким образом, диссертационная работа «Секретируемая металлопротеиназа Mmp3 как регулятор скейлинга системы морфогенетических градиентов белков BMP/Chordin/Noggin в раннем эмбриогенезе шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*» соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. №1539), а Евгений Евгеньевич Орлов, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

Кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Лаборатории проблем регенерации
Института биологии развития РАН
119334, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 26.

d.nikishin@idbras.ru

+7 (499) 135-00-52

Никишин Денис Александрович

Подпись Никишина Д. А. заверяю.

Ученый секретарь ФГБУН Института биологии
развития им. Н.К. Кольцова РАН
к.б.н., доцент



Хабарова М. Ю.

«07» февраля 2024 г.