

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН)

СТЕНОГРАММА

Заседания диссертационного совета 24.1.037.01 при ГНЦ ИБХ РАН

16 октября 2024 года

Защита диссертации
на соискание ученой степени доктора биологических наук

Байрамовым Андреем Вячеславовичем

«Генетические основы эволюции, плана строения и появления новых структур у позвоночных»

по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология

Москва 2024 г.

Мирошников Анатолий Иванович

Диссертация Байрамова Андрея Вячеславовича «Генетические основы эволюции, плана строения и появления новых структур у позвоночных» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности молекулярная биология, научный консультант Андрей Георгиевич Зарайский. Официальные оппоненты: Петр Андреевич Каменский МГУ, Ольга Степановна Воскобойникова из Зоологического института РАН доктор биологических наук и Юлий Валерьевич Шидловский из Института биологии гена. Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки, Институт биологии развития имени Кольцова, Академия наук. Пожалуйста.

Олейников Владимир Александрович:

(Зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя)

Материалы личного дела.

Байрамов Андрей Вячеславович, гражданин Российской Федерации окончил биофак МГУ в 2001 году. Далее с 2001 по 2005 год обучался в очной аспирантуре нашего института и в 2005 успешно защитил кандидатскую диссертацию по специальности молекулярная биология. С 2005 работал в должности младшего научного сотрудника, далее научного сотрудника, а с 2013 года по настоящее время - старшего научного сотрудника лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза нашего института. Работа выполнена в этой лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза Отдела геномики и постгеномных технологий.

Научный консультант - профессор, доктор биологических наук Зарайский Андрей Георгиевич. По теме диссертации опубликовано 38 работ в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Министерством Образования и науки Российской Федерации для опубликования результатов диссертации, а также получено 4 патента Российской Федерации. Объявление о защите автореферат диссертации размещен на сайте ВАК вовремя, а именно 13 июня 2024 года и все необходимые документы в деле имеются.

Мирошников Анатолий Иванович:

Вопросы к учетному секретарю есть.

Вижу, все спасибо Вам, пожалуйста. Докторская - 40 минут.

Байрамов Андрей Вячеславович:

(Излагает основные положения диссертационной работы)

Мирошников Анатолий Иванович:

Вопросы коллеги. Да, пожалуйста.

Завриев Сергей Кириакович, чл.-корр. РАН:

Я, конечно, не специалист в этой области, поэтому у мой вопрос, возможно, покажется наивным. Вы проводили исследование по гомологии вот тех генов? Которые вы изучали у амфибий, осетровых и лягушек и так далее. Есть ли какие-то гомологи в геноме человека, например? Было бы интересно просто об этом упомянуть, если они есть.

Байрамов Андрей Вячеславович:

Вопрос совершенно справедливый. Отдельные гомологи есть, ген *Noggin1* есть у человека и псевдоген *Noggin4*. Есть один ген *Foxg1*. По генам *Foxg1* как раз интересно, что у всех высших позвоночных, если так можно говорить сейчас, это считается устаревшей терминологией, в общем, эволюционно молодых, постараюсь так сказать аккуратнее, у них сохранилось по одному гену. И как раз интерес в том, чтобы изучать древних представителей в том, чтобы понять каким образом сформировалось многообразие. Ген

chordin также есть. Это, в общем, все известные гены, которые в основном как раз на млекопитающих больше всего исследовались. Не у всех генов есть все гомологи.

Мирошников Анатолий Иванович:

Еще вопросы. Пожалуйста.

Овчинникова Татьяна Владимировна, дбн:

Вопрос можно сказать не по существу, но не могу удержаться, чтобы не спросить Вас. Минога, это одно из древнейших, если не древнейшее позвоночное. То есть, это та грань, на которой от врожденного иммунитета мы перешли к адаптивному, в основном на выработке антител. Но известно, что у миног иммунитет совершенно особый, отличается и от беспозвоночных, и от позвоночных. Их лимфоциты имеют так называемые переменные рецепторы, функционирует иммунитет совершенно не похоже ни на то, что было до, ни на то, что после. Вот исследуя генетику у миног, Вы что-нибудь нащупали в плане иммунной системы?

Байрамов Андрей Вячеславович:

Иммунная система у миног уникальна, да, это известно. Но мы, к сожалению этим не занимались. Да, это показывает пределы наших возможностей,

Овчинникова Татьяна Владимировна:

Но у вас еще есть время.

Байрамов Андрей Вячеславович:

Да, это такая перспективная область.

Мирошников Анатолий Иванович:

Еще вопросы. Не вижу, спасибо, Андрей.
Пожалуйста, ученый секретарь.

Олейников Владимир Александрович:

(Зачитывает положительное заключение организации)

Выполнялась работа в нашем институте. У меня в руках заключение, сделанное на основе данных по этой работе, но я опушу все части относящиеся к биографии, поскольку это уже прозвучало. Самое существенное здесь то, что тема диссертационной работы была утверждена 31 января 2024 года и, соответственно, выдано такое заключение. Актуальность, очень хорошо, все здесь уже прозвучало. По поводу актуально признается, что это актуальная идея работы Байрамова состоит в том, что для исследования механизма появления новых структур и признаков лучше всего подходят представители филогенетических групп, у которых исследуемые признаки появляются впервые в эволюции. И, в соответствии с этой идеей настоящей работы, изучение семейств регуляторных генов было проведено на миногах, как представителях бесчелюстных, наиболее древней ветви современных позвоночных, акулах и осетровых, как наиболее архаичных представителей челюстноротых. В совокупности исследования, проведенные с важными объектами, зародышами миног позволили получить новую информацию о сформировавшихся у позвоночных семейств регуляторных генов в развитии морфологического плана строения и появления новых структур, внесших вклад в эволюционный успех позвоночных. Новизна и ценность. В работе впервые описаны множественные паралоги генов на *noggin* и *foxg1* у представителей бесчелюстных. Исследованы гены семейства *Chordin* у позвоночных.

Впервые показано, что ген *chorin-like1* появился у челюстноротых и может быть связан с возникновением у представителей этой группы уникальных по своему строению

парных конечностей. Впервые показано, что механизм нейральной индукции и ранней осевой дифференцировки у зародышей миног могут отличаться от классической модели нейральной индукции, разработанные в первую очередь на амфибиях. Достоверность результатов подтверждается воспроизводимостью экспериментов и статистической обработкой. Личное участие: все работы сделаны с 2005 по 2024 годы, и все сделано либо лично соискателем, либо при его непосредственном участии.

Диссертация соответствует заявленной специальности.

Проверка на оригинальность и отсутствие заимствований проведена.

Результаты опубликованы в 40 статьях, в научных журналах, входящих в соответствующий перечень, 4 патента. Работа рекомендована к защите. Заключение принято на заседании открытого лабораторного семинара Отдела геномики и постгеномных технологий, 30 человек присутствовало, результаты голосования 30 – за, против и воздержавшихся нет. Соответствующее заключение подписано секретарем семинара Паршиной Е.А., заместителем директора ИБХ РАН Ямпольским Ильей Викторовичем и утверждено директором нашего института академиком РАН Александром Габировичем Габировым.

Далее у нас Отзыв ведущей организации, в качестве которой выступал, как было уже сказано сегодня, Институт биологии развития имени Кольцова Российской академии наук.

(Зачитывает отзыв ведущей организации. Отзыв положительный)

Опять же все начинается с актуальности и подчеркивается, что это исследование является актуальным, что работа находится на переднем крае современной биологии развития и молекулярной биологией выполнена на мировом уровне. Использовано множество современных методов. Структура работы изложена на 382 страницах, список литературы еще на 24 страницах. Хорошо продемонстрирована формулировка цели и задач работы, полностью соответствует дизайну проведенного исследования. Достоверность гарантируется комплексным характером выполненной работы, каждый результат получен с помощью нескольких дополняющих друг друга методов. Наиболее интересные результаты я уже отметил, они были отмечены в заключении. В отзыве ведущей организации я не буду это повторять. Ну, и существенная часть это замечания к диссертационной работе.

Автор, с моей точки зрения, этот отзыв готовила Краус Юлия Александровна, автор злоупотребляет названиями таксонов, переведенными на русский язык. Эти названия мало кто знает. Это затрудняет восприятие филогенетических аспектов работы. Подписи к некоторым схемам, экспериментам, графикам и таблицам нужно было сделать более развернутым.

Это касается, например, иллюстраций, имеющих отношение к экспериментам по ко-иммунопреципитации белков в рисунке 59-63. Те же замечания касаются иллюстрации к экспериментам по регенерации хвоста и конечностей. Для того, чтобы разобраться в них, приходится постоянно обращаться к тексту, в том числе к разделу материалы и методы, расшифровывать обозначения и сокращения.

В тексте довольно часто встречаются примеры лабораторного жаргона.

Например, семейство переднеголовных генов, труктурированный рецептор.

Можно поспорить о том, как должны были быть названы отдельные разделы работы. Например, название раздела 2.1.3 Исследование роли генов *poggin* в регенерации. Дело в том, что в регенерационных экспериментах исследовались в основном динамика экспрессии этих генов. Автор совершенно справедливо делает вывод о том, что исследование указывает на вовлеченность этих генов в регенерационные процессы, таким образом, претензии касаются именно названий разделов, а не изложенного в них материала.

Можно также поспорить о причинно-следственных связях продукции плана строения. В некоторых разделах автор работы утверждает, что появление нового гена (в скобках семейства генов) - исходное событие для появления эволюционно новой структуры.

Все-таки надежные генетические механизмы регуляции развития новой структуры скорее всего появляются вторично в результате коопции более-менее подходящего модуля генетической регуляторной сети. Появление нового гена вряд ли инициировало эволюцию нового элемента плана строения.

Но высказанные замечания не снижают ценности работы. Тема и содержание диссертации соответствует специальности 1.5.3 молекулярная биология, отрасли наук - биологические науки. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. И в заключении записано, что работа Андрея Вячеславовича Байрамова, представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3, представляет собой целостное интересное исследование. По своей актуальности, новизне, научному уровню и полноте описаний, достоверности результатов диссертация полностью соответствует всем критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, а сам диссертант заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 - молекулярная биология. Отзыв составлен Юлией Александровной Краус, доктором биологических наук, заведующей лабораторией эволюции морфогенезов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии развития имени Кольцова РАН и, соответственно, утвержден отзыв директором этого института, доктором биологических наук, членом-корреспондентом РАН Васильевым А.В.

Мирошников Анатолий Иванович:

Спасибо! Андрей, дискутировать будем или согласимся?
Выйдите, скажите.

Байрамов Андрей Вячеславович:

С замечаниями, касающимися жаргонизмов и неудачных названий, я согласен, здесь только могу сказать, что можно было, конечно, внимательнее, к этому отнестись. Больше 300 страниц, где-то что-то проскочило, тем более мы все время разговариваем на лабораторном жаргоне. Сложно этого избежать совсем. Для нас, эти слова многие они почти печатные.

Мне кажется, что наиболее глубокое - последнее замечание, которое касается причинно-следственных связей в эволюции и плана строения. Это как раз вопрос очень дискуссионный, потому что, по сути, в нашей работе мы можем только пытаться искать корреляции между какими-то геномными изменениями и морфологическими преобразованиями. Идея нашей работы состоит в том, чтобы попытаться вывести корреляции на представителей филогенетических древних групп. А затем, там, где это возможно, попытаться исследовать их функционально.

Понятно, что наши экспериментальные возможности ограничены только современными представителями, в том числе эволюционных древних линий, которые могут отличаться от предков. Но это - то единственное, что нам доступно для исследований. И понятно, что, как правило, когда мы говорим и, в общем, интуитивно понятно, что речь не идет о том, что новая структура возникает из ничего. Понятно, что скорее всего это преобразование того, что уже было заготовлено раньше. Но как раз вот здесь, на фоне большого числа паралогов генов может создан этот механизм, потому что часть генов получает свободу функционировать и формировать что то новое.

И такие примеры, в общем-то, известны все эти гены, они есть у более низших форм, то есть более древних ланцетников и оболочников. Но как раз их многообразие позволило, возможно, развить какие-то новые структуры, даже не в полной мере, а послужить инициирующим шагом.

Надеюсь, что в дальнейшем мы сможем, мы уже это делаем, пытаться более массово это все дело исследовать, задействуя транскриптомное и геномное секвенирование. Пытаться выявлять уже вот эти не отдельные гены, а регуляторные сети, тут вопрос во

многом технический. По существу - с чем можем работать, с тем и работаем, находим возможности. С палеонтологическими данными генетическими методами не получится.

Мирошников Анатолий Иванович:

Спасибо.

Так, пожалуйста, письменные отзывы.

Олейников Владимир Александрович:

В совет поступило шесть отзывов на автореферат. Все отзывы, положительные, все отзывы без замечаний, поэтому только прочитаю, откуда поступил.

Первый отзыв подписан Афанасьевой Ольгой Борисовной, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории палеоихтиологии Палеонтологического института имени Борисяка Российской академии наук.

Следующий отзыв – Баклушинская, главный сотрудник лаборатории эволюции геномов и механизмов, видообразования, это Институт биологии развития имени Кольцова.

Далее, отзыв поступил от Александра Вадимовича Ересковского, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки, институт биологии, развития имени Кольцова, опять же.

Отзыв поступил от Исаева Валерия Васильевна, ведущий научный сотрудник Лаборатории экологии и морфологии морских беспозвоночных, это Институт проблем экологии и эволюции имени Северцова Российской академии наук.

Отзыв подписан Костюченко Роман Петрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры эмбриологии, и.о. заведующего кафедрой эмбриологии Биофака Санкт Петербургского Государственного университета, биологический факультет.

Ну и, наконец, отзыв, подписанный Плотниковым, заведующим лабораторией структурой функции митохондрий. Это НИИ имени Белозерского МГУ имени Ломоносова.

Мирошников Анатолий Иванович:

Спасибо. Петр Андреевич, пожалуйста.

Каменский Петр Андреевич:

(Излагает отзыв. Отзыв положительный)

Добрый день, уважаемые коллеги.

Я хочу сказать, что, на самом деле мы с Андреем Вячеславовичем очень давно знакомы, и вообще говоря, мы учились на одном курсе на биофаке МГУ и, естественно, я, как и за всеми остальными однокурсниками за ним старался следить все эти годы, прошедшие после окончания нашего обучения. И меня всегда восхищала вот эта наука, которой он занимается, где совмещается и эволюция, и генетика, и клеточная биология, в каком то смысле.

И, честно говоря, я не мог себе никогда представить, что буду оппонировать диссертацию Андрею Вячеславовичу. Мне казалось, гораздо правильнее было бы наоборот, я как то всегда восхищался его исследованиями. Я всегда чувствовал себя догоняющим, но в результате почему-то обогнал, по крайней мере, по времени защиты докторской.

Теперь я делаю это с большим удовольствием и, на самом деле, нахожусь под огромным впечатлением. Если кто-то не видел, коллеги, вот посмотрите на толщину манускрипта, это действительно монументальная работа (*демонстрирует печатный экземпляр диссертации*). И мне не было легко ее читать на самом деле потому, что я не являюсь специалистом в evo-devo, и поэтому, надо было существенные усилия умственные прикладывать. Но в конце концов, я вчитался и по итогу мне все страшно понравилось.

Здесь уже отмечалось, коллеги, в отзывах и в других официальных документах, что у Андрея Вячеславовича в работе есть некая основная идея, которая, с одной стороны, в научном смысле очевидна, но с другой стороны, она при наблюдении за ее реализацией вызывает, конечно, восторг. Я еще раз ее повторю, вот я прямо написал ее в отзыве, скопировал. Идея настоящей работы состоит в том, что для исследования механизмов появления новых структур и признаков лучше всего подходят представители филогенетических групп, у которых эти признаки проявляются впервые в эволюции. Ну, с этим спорить сложно, однако я хочу подчеркнуть, что для того, чтобы в русле этой идеи работать, на самом деле Андрею Вячеславовичу пришлось совершить некий методологический подвиг, причем, скорее всего, даже не один. Потому, что фактически ему нужно было приспособить для более менее стандартных генетических, клеточных и молекулярных методик не модельные объекты, то есть те самые миноги, акулы и осетровые рыбы. Я боюсь даже себе представить, сколько усилий заняло это у Андрея Вячеславовича с коллегами, сколько времени это у него отняло, но по итогу, конечно, он оказался победителем, потому что, я думаю, что все, кто слушал сегодня доклад Андрея Вячеславовича, никто не станет спорить, что результаты получены очень интересные. И, на самом деле, в первую очередь они интересные как раз потому, что они были получены на абсолютно нетривиальных объектах, которые никак нельзя считать лабораторными модельными объектами. Кстати, вот теперь возможно, они к этому разряду приблизились, потому что Андрей Вячеславович с коллегами, в общем, то с нуля, насколько я смог понять, разработал методики лабораторной работы с ними и адаптировал всякие классические вещи типа ин ситу гибридизации и так далее для работы с этими зверями. Вот это мое основное впечатление от работы. Это то, что человек не побоялся не проторенного пути. И ну это, конечно, я бы так не смог. Я могу честно признаться, я всю жизнь работаю только с модельными объектами, и меня это устраивает, я бы не рискнул. А Андрей Вячеславович рискнул, за что ему честь и хвала. Получилось очень классно.

Я быстренько пройду по основным разделам работы.

Почти не буду говорить о конкретных научных результатах, Андрей Вячеславович сам об этом сказал и какой мне смысл повторяться, в любом случае он лучше меня в этом разбирается. А я сосредоточусь, скорее, на каких-то более формальных вещах и более идеологических.

Ну, во-первых. Как порядочный оппонент я должен сказать, что работа построена по стандартному плану и содержит все необходимые разделы, которые должны присутствовать в квалификационных работах на соискание ученой степени.

Раздел Введение, который открывает работу, уже сразу о многом мне сказал потому, что, на самом деле, Андрей Вячеславович очень хорошо пишет, у него прекрасный письменный язык и вот о таких даже сложных и априори мне непонятных вещах, о которых идет речь в работе, он во Введении написал так, что, во-первых, я понял, что он собирается делать, во-вторых, это меня заранее увлекло. Это очень важно, с каким настроением садишься читать такой фолиант. Если исходно у тебя настрой позитивный, так и дело легче пойдет. Поэтому, мне кажется, что Андрею Вячеславовичу удалось во Введении заинтересовать читателя, а это самое главное, на самом деле, для чего оно нужно.

Дальше Обзор литературы. И здесь я тоже остался в полном восхищении. Потому что я, честно говоря, никогда раньше не читал таких литературных обзоров. Потому что он по слогу и по вызываемому интересу, вообще говоря, близок к лучшим образчикам литературы художественной. Обычно все-таки научный текст он совсем не такой, как художественный. Здесь Андрею Вячеславовичу как то удалось приблизиться, может быть это субъективно, так сказать, в моем отношении произошло, потому что я, повторюсь, мне очень интересно было читать про вот этих всех зверей, про которых я ровным счетом ничего раньше не знал - миноги, осетры и так далее. Может быть, поэтому. Но, тем не менее, все-таки, тот факт, что Андрей Вячеславович письменным языком владеет, я не отметить не могу.

Помимо этого, я хочу сказать, что абсолютно никаких сомнений в том, что Андрей Вячеславович великолепно владеет материалом по теме своей работы нет, потому что очень большое количество самых разнообразных фактов он приводит в своем литературном обзоре, подкрепляет их ссылками на литературу, очень часто самую новую 20-х годов. И должен еще отметить умение Андрея Вячеславовича не просто набросать в текст набор фактов из разных статей, а связать их в какую-то единую большую научную мысль, концепцию или гипотезу. Все это очень явно проявилось в литературном обзоре.

Дальше идет раздел Результаты, ну вот тут я как раз, наверное, особо не буду. У меня 3 страницы вот этому посвящено, но я не буду их ни зачитывать, никак излагать, потому что вы сами видели, и результаты у Андрея Вячеславовича хорошие, это мягко говоря. Если выразиться более точно, то просто великолепные, на мой взгляд.

Я хотел бы, единственное задать пару-другую вопросов Андрею Вячеславовичу. Мы с ним дискутировали на самом деле, по результатам прочтения работы. Но некоторые вопросы я хотел бы вынести, все-таки на обсуждение. Большинство вопросов у меня отпало после общения с Андреем Вячеславовичем, но я тогда уж сначала закончу, с вашего разрешения, анализ разделов работы, потому что у меня еще остался раздел Материалы и методы. Должен сказать, пару слов. Он необычен, потому что на самом деле, ну традиционно любого защищающего какую либо работу принято хвалить за многообразие методов. Здесь не получается за это похвалить Андрея Вячеславовича, потому что методов на самом деле он использовал не так много, я их, если не считать филогенетических методов *in silico*, насчитал всего шесть штук.

Но я прошу отметить, что эти шесть методов, я повторюсь, по всей вероятности, Андреем Вячеславовичем с коллегами были просто заново сделаны, потому что они были применены к объектам, к которым никто раньше никогда в нашей стране их не применял. Поэтому, на самом деле, это все равно очень здорово, что все эти методы удалось применить в работе, и поскольку результаты, полученные с их помощью, абсолютно достоверны, очевидно, обладают научной значимостью и так далее, то никаких претензий к тому, что методов мало, быть, конечно, не может. Методов ровно столько, сколько надо для того, чтобы получить классные результаты.

Вот ну теперь буквально несколько вопросов.

Значит, во-первых, у меня есть общее замечание к работе. Андрей Вячеславович, явно имея опыт публикаций в хороших топовых журналах, на мой взгляд, не оптимально организует иллюстрации в своей работе. Все иллюстрации, ну не все, большинство иллюстраций, состоят из огромного количества панелей, иногда их больше десятка. Все это помещено на одном листе А4, а подпись к этой иллюстрации расположена во-первых на другом листе, а иногда при этом еще может занимать две или три страницы, потому что очень много всего надо подписать, соответственно, чтобы разобраться в этом, мне нужно было все время перелистывать туда обратно эти 3 страницы, и это затрудняет, на самом деле, понимание. Поэтому, конечно, моя рекомендация на будущее дробить эти иллюстрации на картинки с меньшим количеством панелей, так они гораздо легче воспринимаются.

Дальше я хотел бы уточнить у Андрея Вячеславовича несколько моментов.

Мне кажется, что эти результаты промелькнули сейчас в докладе, но в работе они точно совершенно были подробно описаны. Я сейчас говорю об очередном эксперименте по использованию трансляции эндогенных мРНК, в частности в данном случае мРНК *noggin4*, и подавлению этого процесса морфолиновыми олигонуклеотидами. И дальше Андрей Вячеславович приводит здесь данные по подтверждению специфичности при помощи контрольного эксперимента по так называемому спасению. В данном эксперименте проводилась дополнительная инъекция мРНК *noggin*, которая не способна связаться с этим ингибирующим морфолиновым олигонуклеотидом. И у меня возник вопрос - почему такие контрольные эксперименты, которые очень правильно на самом деле ставить, они действительно нужны и важны с точки зрения правильной

интерпретации результатов, почему такие контрольные эксперименты ранее, в других опытах с морфолиновыми нуклеотидами и с ингибированием экспрессии генов не проводились.

И еще один вопрос я хотел бы задать.

Дело в том, что, как вы видели из доклада, Андрей Вячеславович много внимания уделяет экспрессии генов, анализирует ее всяческим разным образом, на уровне РНК, на уровне белков. Но только вот уже где-то на исходе второй-третьей работы Андрей Вячеславович впервые как бы указывает на возможный вклад стабильности инъецируемых мРНК в получаемые в соответствующих экспериментах результаты. И, конечно, у меня резонный вопрос – оценивалась ли каким либо образом эта стабильность, ну даже в том случае, когда от инъекций мРНК имеется какой-то очевидный эффект? Все равно, мне кажется, было бы правильно ну хотя бы разочек для каждой из используемых мРНК оценить ее стабильность. Тем более, даже несмотря на то, что это миноги или акулы, это не так сложно при помощи обычной какой-нибудь ПЦР или что-нибудь в этом роде.

И, честно говоря, никаких более серьезных вопросов у меня работа Андрея Вячеславовича не вызвала. Я повторюсь, она написана, на самом деле очень хорошо, она написана вдумчиво, то есть я могу вам гарантировать, что Андрей Вячеславович над этой работой прокорпел кучу времени и писал ее не «на отвали», как говорится, а всерьез. И там существенно меньше всяких ошибок и опечаток, чем это обычно бывает в работах подобного рода и, тем более, подобного размера, поэтому, это действительно качественный научный проект. За это я могу поручиться.

В завершение я произнесу мантры, которые мне положено сказать. А именно, что обсуждаемая работа является завершенной научно-практической квалификационной работой, выполненной на высоком методологическом уровне и имеющей большое научное и практическое значение. Содержание работы, на мой взгляд, в полной мере соответствует специальности, 1.5.3 молекулярная биология, сама работа, соответствует всем критериям соответствующего Положения о присуждении ученых степеней со всеми дополнениями, изменениями и так далее, а сам Андрей Вячеславович, по моему глубочайшему убеждению, абсолютно заслуживает ученой степени доктора биологических наук по специальности молекулярная биология. Спасибо за внимание!

Мирошников Анатолий Иванович:

Спасибо, Петр Андреевич. Ну, так отвечайте.

Байрамов Андрей Вячеславович:

Спасибо за отзыв.

По замечанию с рисунками, здесь я согласен, что стоило, наверное, как то более раздробить, но, с другой стороны, там, в работе, больше 100 рисунков. Если их раздробить, то было бы 500 и, в общем, тогда сложно было бы с номерами. Ориентировались на то, как обычно делаем. В общем, приношу извинения за неудобства. Отчасти неизбежно, отчасти можно было сделать лучше.

По вопросу проверки морфолиновых олигонуклеотидов.

Мы в каждом случае ставили контрольные эксперименты просто, может быть, действительно, я не так подробно их описал в каждой ситуации именно в работе. Разумеется, это все ставилось, и в статьях это все, конечно, всегда проверяется.

Есть разные варианты. Обязательно проверяется контрольными морфолиновыми нуклеотидами с отдельными заменами. То есть, там сам нуклеотид, скажем, 25 нуклеотидов и из них там 4 меняются обычно. Не всегда изготавливалась, такая, может быть, мРНК действительно, которая специально сделана, чтобы на нее не залипал этот нуклеотид, но в целом контрольные эксперименты все проводились, и есть ссылки. Есть статья, в частности, вот по белкам Noggin это все есть в публикации в Development, шестой рисунок. Я вот даже выписал, где это есть, могу потом показать.

По вопросу по стабильности РНК.

Да, мы, поскольку ставили эксперименты по ко-иммунопреципитации, где мы получали, нарабатывали белки в зародышах с той РНК, которую мы синтезировали, то сам факт детекции этих белков, он не вызывал вопросы относительно стабильности РНК. С нее белок читается, причем стабильно. У нас это как раз вызвало отдельный вопрос в экспериментах с миногами, в том числе и потому, что мы, во-первых, не видели эффектов, а во-вторых, у миног, как я упоминал вкратце - долгое развитие. То есть, те стадии, которых лягушка достигает при средней температуре культивирования где то за сутки, условно говоря, минога - за неделю. И в этих условиях у нас, конечно, когда мы не видели эффекта, возник вопрос не разваливается ли там РНК за эту неделю. Вот мы, соответственно, тоже инъецировали РНК кодирующие белки, меченые тус и флас полипептидами, чтобы можно было их детекцию проверить. Это было просто наиболее актуально. То есть, а так мы в основном белки смотрели – если белок есть, значит, мы считаем что РНК работает. Вот такие ответы, спасибо.

Мирошников Анатолий Иванович:

Ольга Степановна, пожалуйста, Воскобойникова, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории ихтиологии, зоологический институт РАН.

Воскобойникова Ольга Степановна

(Излагает отзыв. Отзыв положительный)

Разрешите, я буду читать, поскольку у меня нет опыта преподавания.

Диссертационная работа А.В. Байрамова посвящена влиянию эволюционных преобразований четырех семейств регуляторных генов на характер развития плана строения базальных групп хордовых животных типа Chordata. Морфологические, палеонтологические, эмбриологические и систематические исследования этих таксонов и их родственных отношений были начаты еще в XIX веке и в настоящее время успешно продолжают молекулярными биологами. Актуальность темы диссертации А.В. Байрамова определена выявлением и подробным изучением нескольких семейств регуляторных генов, непосредственно связанных с глобальными изменениями строения целых подтипов и классов позвоночных животных. К ним относятся гены семейств *Noggin*, *Foxg1*, *Anf* и *Chordin*. Их изучение включило в себя исследования филогении, геномной синтении, особенностей экспрессии и функциональных свойств регуляторных генов вышеперечисленных семейств, а также их роли в морфогенезе конечного мозга, челюстей и парных конечностей позвоночных.

При этом А.В. Байрамов целенаправленно выбрал для изучения морфогенетических механизмов эволюции базальных представителей крупных таксонов, у которых, по его мнению, впервые проявились принципиально важные апоморфные особенности строения. В этом ему поспособствовало небольшое число ныне живущих видов этих групп, поскольку большинство их таксонов подверглись массовому вымиранию. В этом качестве в работе были изучены минога из надкласса бесчелюстных, акула из инфратипа челюстноротых, осетрообразные из класса лучеперых костных рыб и представитель наземных позвоночных шпорцевая лягушка из класса амфибий.

Научная новизна диссертации заключается в полученных А.В. Байрамовым важных для науки новых фундаментальных данных. Им впервые описаны множественные паралоги генов *noggin* и *foxg1* у представителей миног, акул и осетрообразных рыб, прослежены особенности распределения этих генов в разных подтипах и классах хордовых. Гены этих семейств принимают участие в формировании переднего мозга позвоночных, а также в регуляции клеточной дифференцировки. Впервые исследованы функциональные свойства генов *noggin2* и *noggin4* челюстноротых, их роль в раннем развитии, регуляции внутриклеточных сигнальных каскадов и участие в регенерационных процессах. Диссертантом установлено, что возникновение конечного мозга при переходе

от базальных хордовых к позвоночным происходило на фоне полногеномных дупликаций, появления множественных паралогов генов *poggin*, *foxg1* и появления гена *anf*. На границе перехода от бесчелюстных к челюстноротым произошло появление гена *chordin-like 1*, с которым, вероятно, связано возникновение парных конечностей. Вторая полногеномная дупликация выявлена при возникновении отряда хрящевых ганоидов.

Впервые описан и исследован ген класса *Anf* у миног. Обнаружение гена *lanf* (lamprey *anf*) у миног позволило подтвердить выдвинутую ранее гипотезу о важности появления гена *anf* для возникновения уникального конечного мозга позвоночных. Конечный мозг впервые в эволюции появился именно у бесчелюстных и в ходе дальнейшей эволюции развился в кору больших полушарий, обеспечивающую высшие формы нервной активности у позвоночных, в том числе у приматов и человека.

Исследованы гены семейства *Chordin* у позвоночных. Впервые показано, что ген *chordin-like1* появился у челюстноротых и может быть связан с возникновением у представителей этой группы уникальных по своему строению парных конечностей.

В работе впервые показано, что механизмы нейральной индукции и ранней осевой дифференцировки эмбрионов миног могут отличаться от классической модели нейральной индукции, разработанной преимущественно на амфибиях.

Помимо научной новизны диссертационная работа А.В. Байрамова имеет и существенное практическое значение. В ходе ее проведения была разработана уникальная для нашей страны методика содержания и систематического получения в лабораторных условиях живых эмбрионов речной миноги *L. fluviatilis*, как представителя базальных позвоночных. Также в диссертации выполнена оптимизация комплекса лабораторных методик для работы с филогенетически важными в связи с их базальным положением немодельными объектами – эмбрионами миног, хрящевых и осетрообразных рыб. Разработанные методы и результаты расширяют возможности проведения исследований на экзотических и сложных в техническом отношении видах и имеют большую ценность для специалистов, работающих не только в области молекулярной биологии, но и биологии развития.

Хотелось бы отметить значительное разнообразие освоенных А.В. Байрамовым и адекватно применяемых им методов молекулярного анализа: биоинформатический анализ филогении и локальной геномной синтении исследуемых генов, получение полноразмерных кДНК исследуемых генов методом обратной транскрипции-ПЦР (ОТ-ПЦР), оценка динамики экспрессии исследуемых генов методом количественной ОТ-ПЦР в реальном времени (что, с учетом описанных в работе особенностей строения ДНК исследуемых объектов, является нетривиальной задачей), инъекции синтетических мРНК и морфолиновых олигонуклеотидов в развивающиеся эмбрионы *in vivo*, гибридизация *in situ*, люциферазные тесты, ко-иммунопреципитация и иммуноблоттинг, а также поверхностный плазмонный резонанс.

Результаты диссертации опубликованы в 40 статьях в рейтинговых рецензируемых журналах, что подтверждает их достоверность. Результаты работы были представлены в виде приглашенных докладов и стендовых сообщений на 8 международных конференциях. Диссертант является соавтором 4х патентов.

Выводы диссертации хорошо обоснованы.

Структура диссертации выстроена по классическому плану, состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературных данных, Результаты, Обсуждение результатов, Материалы и методы исследования и Выводы.

Текст диссертации изложен на 382 страницах машинописного текста, содержит 127 Рисунков и 6 Таблиц. Список цитированной литературы включает 488 работ.

К работе имеются некоторые замечания.

1. Не вполне понятно из автореферата, откуда взялась схематичная филогенетическая схема хордовых животных (рис. 2).

2. Кроме упомянутых, есть еще одно представление о происхождении парных плавников (Coates, 2003). Он указывает, что «трансформация дуги в пояс не подразумевается обязательно, но некоторый сигнал о родственности развития жаберных дуг и грудного плавника предсказан». В работе Олссона (Olsson, 2004) по распределению производной неврального гребня мезенхимы на рис. 3 автором отмечено два последовательно расположенных бранхиальных отдела мезенхимы. Поскольку задний из них находится на уровне обычного расположения грудного плавника – позади головы, можно предположить, что он связан с закладкой грудного плавника. А.В. Байрамов показал, что активность гена *chordin-like1* наблюдается в жаберных дугах и плавниках эмбриона акул, что указывает на возможное сходство механизмов формирования этих структур.

3. На стр. 40 автореферата диссертант указывает, что химеры представляют собой базальную группу для акул, но на самом деле они являются их сестринской группой. А.В. Байрамов выдвигает гипотезу о связи появления и закрепления в эволюции Пластиножаберных их уникального хрящевого скелета, появившегося вторично, со сдвигом регуляторного баланса BMP/Noggin в этой группе при исчезновении гена *noggin1*. При этом у химер на фоне сохранения гена *noggin1* скелет также хрящевой и достаточно продвинутого строения.

Сделанные замечания не умаляют значительности выполненной А.В. Байрамовым диссертационной работы. Содержание диссертации полностью соответствует специальности 1.5.3 - молекулярная биология. Автореферат в полной мере отражает основное содержание диссертационной работы.

Диссертационная работа Андрея Вячеславовича Байрамова представляет собой тщательно выполненное разностороннее капитальное исследование, которое может служить эталоном для аналогичных работ по связи генетической и морфологической эволюции животных.

Диссертационная работа Байрамова Андрея Вячеславовича на тему «Генетические основы эволюции плана строения и появления новых структур у позвоночных», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 - «молекулярная биология», по своей актуальности, научной новизне, полноте описания и достоверности полученных результатов соответствует всем критериям, в том числе пункта 9, установленным Положением о присуждении ученых степеней и предъявляемым к диссертациям на соискании ученой степени доктора наук, а ее автор Байрамов Андрей Вячеславович заслуживает присвоения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Мирошников Анатолий Иванович:

Спасибо, Ольга Степановна.

Воскобойникова Ольга Степановна

Спасибо Андрею.

Мирошников Анатолий Иванович:

Выступать будете?

Байрамов Андрей Вячеславович:

Большое спасибо Ольге Степановне за отзыв и за время потраченное на знакомство с работой. В том числе за то, что Вы приехали специально из Петербурга на защиту.

По замечаниям. Три замечания.

По поводу филогенетической схемы.

Да, я согласен, наверное, стоило привести источники, но там нет какого то одного источника, это скорее такая составная схема из разных источников, и в данном случае мы

не решали задачу представления точной систематики, тем более что она все время уточняется, меняется много. Есть несколько ссылок. Я готов показать, это несколько работ: Evans, Yamamoto, Marjanović, Betancur. Несколько статей, которыми я вдохновлялся. В данном случае схема нужна была только для того, чтобы показать к каким филогенетическим веткам относятся исследуемые нами группы животных.

По поводу разных идей происхождения парных плавников в целом можно сказать, что это вопрос достаточно обсуждаемый. Но в основном все гипотезы, высказанные до нашего времени, это такие ментальные реконструкции. Это, можно сказать, представление о том, как это могло бы быть. При том, что сам вопрос лежит на стыке нескольких дисциплин, это палеонтологические данные, эмбриологические генетические и важно такую гипотезу сформулировать, которая бы, по крайней мере, не противоречила бы разным сферам знаний.

Поэтому я так понял, что идея Coates, которая высказана в статье 2003 года, она в основном опирается на палеонтологические данные и в целом восходит к идее высказанной еще Гегенбауэром о родстве парных плавников и жаберных дуг, что скелет по крайней мере грудных плавников мог возникнуть и скелета жаберных дуг. Это один из векторов мысли и на сегодняшний день эта гипотеза, несмотря на то что долгое время фактически 100 лет, она считалась уже представляющей исключительно исторический интерес, на сегодняшний день действительно находится много генетических подтверждений сходства механизмов развития жаберных дуг и грудных плавников, которые, в том числе и мы, тоже отмечаем. Но вопрос, насколько гомологичны эти структуры он более широкий, здесь нужны данные из разных областей знаний. Стараемся их добывать, но это не так очевидно.

По 3 вопросу, что химеры это базальная группа, это была такая смысловая печатка. Имелось ввиду, что это базальная для хрящевых рыб, естественно, должно было там быть. Тут я совершенно согласен, справедливое замечание.

По поводу наличия гена *poggin1* у химер - тоже это справедливое замечание.

Нам, когда мы с рецензентами по статье общались, этот вопрос тоже задавали. Но здесь важно иметь ввиду, что присутствие гена в геноме еще само по себе не говорит о том, что он активен, что там транслируется белок, что есть РНК. Здесь интересно то, что мы в линии пластиножаберных, то есть акул и скатов, наблюдаем последовательно стадии редукции у разных представителей этой группы, от присутствия генов геноме, но его отсутствия в транскриптомах, хотя еще в геноме ген сохраняется дальше. Затем идет какое-то мутационное изменение гена, его псевдогенизация и дальнейшее уже вырезание из генома. То есть как раз интересно, что удалось проследить ряд стадий вот таких последовательных и в данном случае есть ли этот активный белок у представителей химеровых, которые самая базальная группа, вот это тоже вопрос, пока данных нет. Пока он висит в воздухе, но, надеюсь, что со временем мы ответ на него получим. К сожалению, нам пока вот химер, то быть не удалось для экспериментов, но, может быть, со временем получится.

Мирошников Анатолий Иванович:

Спасибо. И доктор биологических наук, оппонент третий, из Института биологии гена. Пожалуйста.

Шидловский Юлий Валерьевич

(Излагает отзыв. Отзыв положительный)

Глубокоуважаемые коллеги, я в своем отзыве вкратце уже скажу о том, что в русле уже предыдущих оппонентов о том, что, конечно, работа очень достойная, высокого уровня. Про актуальность сразу скажу, что, собственно, мне больше всего понравилось в этой работе, что действительно здесь попытка такого синтеза различных направлений биологического знания. Сейчас имеется огромное количество молекулярно-генетических

данных, мне как молекулярному генетику это особенно важно. Попытка свести в один фокус и молекулярную генетику и строение генов и регуляторных элементов, их экспрессия и анатомия и эмбриология у различных видов организмов. То есть здесь, конечно, в этой работе были сведены вот в один фокус целый ряд направлений биологической науки. Я считаю, что это вообще самое важное сейчас может быть направление в биологии. Попытка вот именно синтезировать все имеющиеся разноплановые данные в один фокус, и здесь, конечно, таких работ, к сожалению, вообще не очень много. И данная работа, она, конечно, очень достойно выглядит, поэтому для меня, конечно, актуальность здесь, несомненна. И здесь, одна, может, из самых таких ярких работ, которые я вообще видел. И она мне, конечно, очень понравилось и я ее всячески поддерживаю. Коротко скажу формальные вещи. Основные задачи, которые были поставлены, это, собственно, исследование филогении, геномной синтении, особенностей экспрессии и функциональных свойств генов некоторых семейств и их роли в морфогенезе конечного мозга и конечностей.

Из новизны тоже хотел подчеркнуть использование таких не модельных объектов, о чем уже говорил первый оппонент. Конечно, это тоже очень важно, чтобы расширять наши представления и знания, исследовать различные другие виды организмов, потому что, к сожалению, каждый из нас более сосредоточен на своих любимых организмах. Здесь, конечно, в этой работе попытка расширить такой взгляд и увидеть перспективу в более глобальном масштабе. Подробно про результаты я рассказывать не буду.

Сама работа имеет стандартную организацию, достаточно подробный обзор литературы, о чем уже было сказано. Все, что обычно должно быть, в таких работах все присутствует, и, наверное, я уже перейду к основным выводам, которые я могу сделать по этой работе. Что опубликованы данные в 40 публикациях в журналах высокого уровня. Выводы являются обоснованными, в полной мере отражают основные результаты. Показывают новизну и значимость диссертационного исследования. Отдельно хотел отметить и прекрасные иллюстрации. Это, конечно, большой вопрос, как их организовать, чтобы всем было удобно, но, конечно, качество иллюстраций и их объем вызывает тоже такое восхищение в этой работе.

Диссертационное исследование, содержательное, высококачественное, чрезвычайно интересное. Содержание соответствует специальности 1.5.3 Молекулярная биология и замечаний, к сожалению, я тоже пытался найти и вот не смог таких серьезных замечаний найти. Потому что действительно автор прекрасный писатель, прекрасный докладчик, и мне кажется, здесь была такая для оппонента серьезная задача. Есть пара небольших замечаний по подробностям - недостаточно подробное описание методов. И буквально несколько опечаток, какие-то не удачные речевые обороты, что также в принципе говорилось, но для такого объема работы, конечно, здесь все это вполне простительно. Поэтому разрешите более уже не утомлять и высказать свои последние слова в качестве оппонента. Диссертационная работа Андрея Вячеславовича на тему «Генетические основы эволюции плана строения и появления новых структур у позвоночных», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 молекулярная биология, по своей актуальности и научной новизне, полноте описаний и достоверности полученных результатов соответствует всем критериям, в том числе, пункту 9, установленным Положением присуждения ученых степеней Правительства Российской Федерации и предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Байрамов Андрей Вячеславович заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 молекулярная биология. Спасибо.

Мирошников Анатолий Иванович:

Юлий Валерьевич, спасибо большое, так то, вроде бы, на замечания отвечать не надо. Послушаем научного консультанта.

Зарайский Андрей Георгиевич

Да ну тут в основном то все хорошие слова сказали. Мне кажется, важно подчеркнуть, что вот эта работа Андрея Вячеславовича знаменует собой появление такого нового направления у нас в стране уникального - эволюционная биология развития позвоночных именно вот этой ветви, которая принадлежит и человеку, это очень важно. Обычно для докторских диссертаций хорошо считается, когда основывается какое то новое направление. Вот это как раз такой случай. Для меня была большая удача работать с Андреем все эти годы, и надеюсь, мы продолжим дальше. Вся эта работа, главное, что она не скороспелая. Она очень выдержанная, как хорошее вино, это все делалось в течение, наверное, больше 20 лет, даже точно так не скажу, но где то около того. То есть это вполне такой, тут фундаментальный труд. Предлагаю поддержать, спасибо всем спасибо.

Мирошников Анатолий Иванович:

Так коллеги. Открываем дискуссию. Кто хотел бы выступить?

Академик Деев Сергей Михайлович:

Дорогие коллеги, далекая от меня тема. Я, честно говоря, выступаю только потому, что не вижу активности в зале, наверное, потому что перегрелись, сидеть тяжело, душно.

Но решил немножко в далекой от меня области выступить. Я получил колоссальное удовольствие от заслушивания этой работы. Видно, что прекрасная работа, прекрасный доклад, жалко, конечно, что докладчик его читал, ну, наверное, для того, чтобы не выйти из положенных 40 минут времени, а то, когда начинаешь говорить, иногда увлекаешься. Вот блестящий доклад, блестяще построенный, отличные пункты. Это вообще-то цельная действительно хорошая докторская работа.

Давайте дальше не будем сидеть в этом зале, поддержите мое мнение. Давайте голосовать за прекрасную работу, спасибо.

Мирошников Анатолий Иванович:

Андрей, Вам заключительное слово.

Байрамов Андрей Вячеславович:

Постараюсь тоже покороче, чтобы уже не утомлять.

Большое всем спасибо, кто помог мне в выполнении работы, доведении ее до заседания. В первую очередь, конечно сотрудникам лабораторий молекулярных основ эмбриогенеза и отдельная признательность с моей стороны Галине Владимировне Ермаковой за многолетнюю работу. Мы в основном с ней работали. Вот как раз очень большой ее вклад в разработку этих всех методов, которые Петр Андреевич тут так красочно живописал. Их пришлось действительно разрабатывать. Когда начинаешь работать с объектом сначала ничего не получается, потом начинаешь потихоньку думать, искать варианты. Это требует очень кропотливой работы, вот в основном это заслуга Галины Владимировны. Также моя искренняя благодарность научному консультанту и руководителю нашей лаборатории Зарайскому Андрею Георгиевичу за готовность идти на риск при планировании исследований с такими животными, с которыми вообще неизвестно получится ли что-нибудь. А отчеты писать надо. Я бы, наверное, сам на такое не всегда решился.

Большая благодарность Александру Васильевичу Кучерявому, благодаря которому мы начали добывать миног сначала разово, а потом более системно. Также Ирине Валерьевне Мейнцер и Николаю Сергеевичу Мюге, которые нам помогают с акулами и осетровыми.

Что касается финального этапа уже подготовки самой диссертации, то огромное спасибо оппонентам за то, что они потратили время, прочитали много страниц научного текста. Многих бы просто отпугнула такая задача.

