

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.230.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ
БОГОЛЮБОВОЙ ИРИНЫ ОЛЕГОВНЫ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 17 мая 2019 года № 241/419

О присуждении **Боголюбовой Ирине Олеговне** (Россия) ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация **«Структурно-функциональная организация ядра в период активации эмбрионального генома мышцы»**
по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»
принята к защите 08.02.2019 г. (протокол заседания № 238/416)
диссертационным советом Д 002.230.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии РАН (ИНЦ РАН), адрес: 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, дом 4, утвержден приказом Минобрнауки № 105/нк от 11.04.2012 г. Частичные изменения Совета утверждены Приказом № 94/нк от 06.02.2019 г. (вступил в силу 13.03.2019 г.).

Соискатель Боголюбова Ирина Олеговна, 1968 года рождения.

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Цитофизиологическая характеристика адаптационных реакций пищеварительного тракта низших позвоночных» защитила в 1995 году, в порядке прохождения очной аспирантуры, в диссертационном совете, созданном на базе Санкт-Петербургского государственного университета. В Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте

цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН) работает с 1997 года; с 2019 года занимает должность ведущего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в Лаборатории морфологии клетки Института цитологии РАН.

Научный консультант: нет.

Официальные оппоненты:

1. Доктор биологических наук, профессор **Зацепина Ольга Владимировна**, главный научный сотрудник с выполнением обязанностей руководителя Лаборатории функциональной организации клеточного ядра Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва
2. Доктор биологических наук **Киреев Игорь Игоревич**, заведующий Отделом электронной микроскопии Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
3. Доктор биологических наук, доцент **Кузнецова Татьяна Владимировна**, ведущий научный сотрудник Отдела геномной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» (Санкт-Петербург) в своем положительном заключении, составленном ведущим научным сотрудником Отдела молекулярной генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (ФГБНУ «ИЭМ»)

д.м.н. Дыбаном Павлом Андреевичем и утвержденном директором ФГБНУ «ИЭМ» д.б.н., профессором РАН Дмитриевым Александром Валентиновичем, указала, что полученные И.О. Боголюбовой данные вносят принципиальный вклад в понимание морфофункциональной организации клеточных ядер на ранних стадиях дробления эмбрионов мыши и значительно расширяют наши познания об общих закономерностях функциональной компартментализации клеточного ядра. Практическое значение диссертационной работы заключается в разработанной и охарактеризованной автором новой модели, которая может быть использована специалистами, работающими в области изучения морфофункциональной организации клеточных ядер ранних эмбрионов мышевидных грызунов. Докторская диссертация И.О. Боголюбовой «Структурно-функциональная организация ядра в период активации эмбрионального генома мыши» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как новое крупное научное достижение, и полностью соответствует критериям, установленным в пунктах 9—14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор Боголюбова Ирина Олеговна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология **и дала положительный отзыв на диссертацию.**

Соискатель имеет 85 печатных научных и учебно-методических работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 42 работы, из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций, опубликовано 20 работ. Из них в рецензируемых научных изданиях на русском языке 9 работ и 11 работ в рецензируемых научных изданиях на английском языке. В диссертации отсутствуют недостоверные

сведения об опубликованных И.О. Боголюбовой работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

Bogolyubova I., Bogoliubova N., Bogolyubov D., Parfenov V. 2006. Nuclear structure in early mouse embryos: a comparative ultrastructural and immunocytochemical study with special emphasis on the “2-cell block in vitro”. *Tissue and Cell*. 38 : 389—398.

В данной работе представлены данные об особенностях ультраструктурной организации ядер, а также внутриядерного распределения ряда компонентов транскрипции и сплайсинга мРНК (нефосфорилированной форме РНК-полимеразы II, факторов сплайсинга SC35 и snRNP) при остановке развития in vitro. Данные относятся к выводу 6.

Боголюбова И.О., Парфенов В.Н. 2012. Особенности иммунофлуоресцентного выявления ядерного актина в ранних эмбрионах мыши. *Цитология*. 54 (7) : 541—548.

В работе представлены результаты сравнительного анализа паттернов распределения актина в ядрах двухклеточных эмбрионов при использовании антител к разным концам молекулы актина; делается вывод о том, что наблюдаемые различия не связаны с выявлением двух разных функциональных форм олигомерного актина. Данные относятся к выводу 7.

Bogolyubova I., Bogolyubov D., Parfenov V. 2009. Localization of poly(A)⁺ RNA and mRNA export factors in interchromatin granule clusters of 2-cell mouse embryos. *Cell and Tissue Research*. 338 : 271—281.

В работе показано присутствие в кластерах интерхроматиновых гранул (КИГ) эмбрионов мыши полиаденилированных РНК и белков hnRNP семейства A/B, а также накопление в КИГ при ингибировании транскрипции фактора экспорта мРНК NXF1/TAP, что указывает на возможное участие КИГ в эмбрионах мыши в регуляции транспорта мРНК. Данные относятся к выводам 2 и 8.

Bogolyubova I. 2009. F-actin distribution pattern in the nuclei of early mouse embryos. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 43 : 461—463.

В работе продемонстрировано отсутствие в ядрах нормально развивающихся эмбрионов классических актиновых филаментов. Данные относятся к выводу 7.

Bogolyubova I.O. 2011. Transcriptional activity of nuclei in 2-cell blocked mouse embryos. *Tissue and Cell*. 43 : 262—265.

В работе продемонстрировано постепенное угнетение транскрипционной активности по мере развития состояния «двухклеточного блока *in vitro*». Данные относятся к выводу 6.

Bogolyubova I., Stein G., Bogolyubov D. 2013. FRET analysis of interactions between actin and exon-exon-junction complex proteins in early mouse embryos. *Cell and Tissue Research*. 352 : 277—285.

С использованием метода FRET в ядрах ранних эмбрионов мыши показано наличие тесных топологических взаимодействий между молекулами актина и компонентами комплекса связи экзонов (Aly/REF, Y14, NXF1/TAP), что позволяет предполагать непосредственное вовлечение актина в экспорт новосинтезированной мРНК. Данные относятся к выводам 4 и 7.

Bogolyubova I.O., Bogolyubov D.S. 2013. An immunocytochemical study of interchromatin granule clusters in early mouse embryos. *BioMed Research International*. 2013 : 931564.

В работе описана динамика изменения размеров и числа кластеров интерхроматиновых гранул, а также особенности и молекулярного состава на разных этапах активации эмбрионального генома. Данные относятся к выводам 1 и 2.

Bogolyubova I.O., Bogolyubov D.S. 2014. Nuclear distribution of RNA polymerase II and mRNA processing machinery in early mammalian embryos. *BioMed Research International*. 2014 : 681596.

В работе доказывается, что пространственное распределение компонентов ядерного метаболизма оказывает существенное влияние на регуляцию процессов экспрессии генов. Период дробления характеризуется наиболее резкими и динамичными ядерными перестройками, сопровождающими

активацию зиготических генов. Специальное внимание уделено анализу данных о распределении ведущих факторов транскрипции, зависимой от РНК-полимеразы II, экспорта мРНК и сплайсинга пре-мРНК на ранних этапах эмбриогенеза млекопитающих. Данные относятся к выводу 1.

Sailau Zh., Bogolyubov D.S., **Bogolyubova I.O.** 2017. Nuclear distribution of the chromatin-remodeling protein ATRX in mouse early embryogenesis. *Acta Histochemica*. 119 : 18—25.

В работе продемонстрирована гетерогенность проядрышек по содержанию хроматинре моделирующего белка ATRX в составе окружающего их гетерохроматина. Данные относятся к выводам 1 и 5.

Боголюбова И.О. 2017. Гетерогенность коилинсодержащих доменов в ядрах ранних эмбрионов мыши. *Цитология*. 59 (4) : 290—297. (Bogolyubova I.O. 2017. Heterogeneity of coilin-containing nuclear domains in early mouse embryos. *Cell Tissue Biology*. 11 : 293—299.)

В работе описаны различия по молекулярному составу коилинсодержащих телец двух типов, выявляемых в нуклеоплазме эмбрионов на завершающих этапах активации эмбрионального генома и начальных этапах нуклеологенеза; а также охарактеризовано перераспределение коилина при искусственном подавлении транскрипции. Данные относятся к выводам 3 и 8.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Ведущего научного сотрудника Лаборатории биологии опухолевых клеток и меланомы Латвийского центра биомедицинских исследований, действительного члена Латвийской академии наук, д.м.н. **Екатерины Эренпрейсы**. Отзыв положительный, без критических замечаний.
2. Ведущего научного сотрудника Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии им. С.И. Георгиевского д.м.н. **Евгении Юрьевны Зяблицкой**. Отзыв положительный, без критических замечаний.
3. Ведущего научного сотрудника Лаборатории клеточной патологии Института цитологии РАН д.б.н. **Татьяны Геннадьевны Зыбиной** и д.б.н.

Евгении Викторовны Зыбиной. Отзыв положительный, без критических замечаний.

4. Старшего научного сотрудника, профессора Кафедры генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета д.б.н. **Людмилы Андреевны Мамон.** Отзыв положительный, без критических замечаний, содержит вопрос: «В свете результатов, полученных при анализе транскриптомов, в том числе транскриптомов отдельных клеток и/или эмбрионов на ранних стадиях развития, существует ли уверенность в том, что гетерохроматиновые участки хромосом, ассоциированные с проядрышками, являются транскрипционно инертными?»

5. Ведущего научного сотрудника Лаборатории молекулярной генетики ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных, филиал Федерального научного центра животноводства им. акад. Л.К. Эрнста д.б.н. **Ларисы Васильевны Козиковой.** Отзыв положительный, содержит критическое замечание: «...Для полной картины недостает изучения генетических особенностей подобных процессов с учетом экспрессии основных генов, участвующих в период активации эмбрионального генома».

6. Ведущего научного сотрудника Лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН д.б.н. **Владимира Ивановича Попенко.** Отзыв положительный, содержит замечание: «...В автореферате И.О. Боголюбова отмечает, что ассоциированный с проядрышками гетерохроматин в 1-2 клеточных эмбрионах мыши имеет своеобразный молекулярный состав, отличный от такового периферического гетерохроматина. Поэтому мне кажется, что табл. 1 выиграла бы, если в нее добавить колонку по данным периферического гетерохроматина для непосредственного сравнения данных».

7. Заведующего Лабораторией биосистематики и цитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН д.б.н. **Александра Викентьевича Родионова.** Отзыв

положительный, содержит замечания редакционного и терминологического характера в связи с использованием автором большого числа необщепринятых сокращений, а также с употреблением термина «гетерохроматин» для обозначения всех хроматиновых телец, без дифференцировки конститутивного гетерохроматина и гетерохроматинизированного эухроматина.

8. Доцента Кафедры анатомии и физиологии человека и животных Факультета биологии Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена к.б.н. **Алсу Фаритовны Сайфитдиновой**. Отзыв положительный, без критических замечаний.

9. Профессора кафедра эмбриологии Санкт-Петербургского государственного университета д.б.н. **Арчила Карпезовича Дондуа**. Отзыв положительный, без критических замечаний.

10. Ведущего научного сотрудника Лаборатории морфологии и функции клеточных структур Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН к.б.н. **Елены Владимировны Киселевой**. Отзыв положительный, без критических замечаний.

11. Заведующего кафедрой цитологии и гистологии биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета д.б.н., проф. **Александры Давидовны Харазовой**. Отзыв положительный, без критических замечаний.

В дискуссии принимали участие:

1. Д.б.н. Е.С. Снигиревская, член Диссертационного совета
2. Д.м.н., проф. М.М. Шавловский, член Диссертационного совета
3. Д.б.н. И.М. Кузнецова, член Диссертационного совета
4. Д.б.н. С.О. Скарлато, член Диссертационного совета
5. Д.б.н., проф. Е.Р. Гагинская, член Диссертационного совета
6. Д. ф.-м.н., проф. К.К. Туроверов, член Диссертационного совета
7. Д.б.н., проф. С.Н. Борхсениус, председатель Диссертационного совета.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их опытом, квалификацией и наличием публикаций в международных и отечественных журналах, благодаря чему они являются признанными экспертами в сфере проблем организации клеточного ядра и пространственной организации экспрессии генов, в том числе в раннем эмбриогенезе млекопитающих. Проф. О.В. Зацепина является признанным специалистом в области изучения ядрышка и его производных в различных типах клеток млекопитающих, включая доимплантационные эмбрионы мыши. Д.б.н. И.И. Киреев является высококвалифицированным специалистом в области изучения структурно-функциональной организации генетического аппарата высших эукариот, в том числе с использованием современных микроскопических методов, включая электронную микроскопию. Д.б.н. Т.В. Кузнецова является высококвалифицированным специалистом в области цитогенетики животных и человека, при этом ее основные научные интересы связаны со структурно-функциональной организацией хромосом в оогенезе и раннем эмбриогенезе человека и млекопитающих.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея о поэтапном формировании ядерных компартментов в период активации эмбрионального генома, обогащающая научную концепцию функциональной компартментализации клеточного ядра;
предложена оригинальная научная гипотеза о принципиальных различиях между структурной организацией транскрипционно инертных ядер эмбрионов до начала активации эмбрионального генома и структурной организацией ядер транскрипционно активных эмбрионов после искусственного подавления транскрипционной активности;

доказано наличие закономерностей структурных перестроек основных ядерных компартментов при активации эмбрионального генома, а также неизвестных ранее связей между морфодинамикой ядерных доменов и

изменением транскрипционной активности ядра в ходе активации эмбрионального генома;

введены новые представления об основных тенденциях в структурной перестройке ядер в рамках программы нормального развития, а также о присутствии особых провизорных ядерных доменов в ядрах эмбрионов на начальных стадиях дробления.

Теоретическая значимость исследования обусловлена тем, что:

доказаны положения о специфике строения ядер и внутриядерных структур доимплантационных эмбрионов млекопитающих, вносящие вклад в расширение представлений о функциональной компартментализации клеточного ядра;

применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс классических и современных методов морфологического анализа и экспериментальных методик, включая электронную микроскопию, иммуноцитохимическое мечение на светооптическом и ультраструктурном уровнях, микроинъекции меченых предшественников и зондов, ингибиторный и ферментный анализ, а также методы статистической обработки данных;

изложены доказательства уникальности системы функциональной компартментализации пронуклеусов зигот и ядер эмбрионов на начальных стадиях дробления;

раскрыты принципиальные особенности структурной организации ядер в ранних эмбрионах, отличающие их от таковых дифференцированных соматических клеток;

изучены взаимосвязи между транскрипционной активностью ядер эмбрионов и морфофункциональным состоянием основных ядерных структур (ядерные спеклы, коилинсодержащие тела), включая уникальные структуры (проядрышки), выявляемые исключительно в ранних эмбрионах млекопитающих;

проведена модернизация фундаментальных представлений о характере зависимости структурной организации ядра от его транскрипционной

активности применительно к пронуклеусам зиготы и ядрам ранних эмбрионов млекопитающих, разработана принципиально новая модель поэтапного формирования дефинитивной структуры клеточного ядра в период активации эмбрионального генома.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены в практику научного исследования оригинальный подход для выявления различных форм ядерного актина и протоколы иммуноцитохимического мечения, адаптированные для эмбрионального материала;

определены перспективы практического использования полученных теоретических данных об основных тенденциях формирования дефинитивной структуры ядра на ранних этапах дробления при реализации программы нормального развития для разработки новых морфологических критериев оценки качества эмбрионального материала;

создана экспериментальная и теоретическая база для дальнейших исследований ядерной компартиментализации;

представлены материалы, которые могут быть включены в курсы лекций по клеточной биологии и биологии развития для студентов вузов биологического и медицинского профилей. В настоящее время материалы диссертации используются в специальном курсе «Регуляторные механизмы экспрессии генома» для аспирантов ИНЦ РАН, обучающихся по направлению 06.06.01 – Биологические науки, по направленности «Клеточная биология, цитология, гистология».

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ было использовано сертифицированное оборудование, прошедшее плановую проверку, выбор методов обоснован спецификой работы и соответствует поставленным в работе задачам, показана воспроизводимость результатов исследования;

теория построена на проверяемых данных и согласуется с результатами, полученными и опубликованными другими авторами в данной области и в смежных областях;

идея базируется на анализе и обобщении экспериментальных данных, полученных автором, а также работ, опубликованных российскими и зарубежными исследователями в области пространственной организации работы генома;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее при исследовании основных закономерностей функциональной организации ядра других объектов, включая ооциты млекопитающих;

установлено, что авторские результаты согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным;

использованы современные методики получения и обработки экспериментальных данных, представительные выборочные совокупности, адекватные методы статистической обработки результатов.

Личный вклад соискателя состоит в:

планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, анализе и интерпретации полученных экспериментальных данных, апробации полученных результатов, подготовке и написании публикаций. В перечне соавторов рецензируемых публикаций автор представлен на первом или на последнем месте.

Диссертационная работа И.О. Боголюбовой, посвященная структурно-функциональной организации ядра в период активации эмбрионального генома мыши, является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием, в котором на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области клеточной биологии. Диссертационная работа И.О. Боголюбовой полностью удовлетворяет требованиям пп. 9—14 «Положения о присуждении ученых

степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к докторским диссертациям по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

На заседании 17 мая 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Боголюбовой Ирине Олеговне ученую степень доктора биологических наук по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **25** человек, из них **13** докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из **27** человек, входящих в состав совета, проголосовали:

за – **23**, против – **2**, недействительных бюллетеней – **нет**.

Председатель

Диссертационного совета Д 002.230.01 на базе ИНЦ РАН,

доктор биологических наук, профессор



С.Н. Борхсениус С.Н. Борхсениус

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 002.230.01 на базе ИНЦ РАН,

кандидат биологических наук

Н.Н. Безбородкина

Н.Н. Безбородкина

20.05.2019 г.