

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ИНСТИТУТ  
ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ  
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»  
(ИЦиГ СО РАН)

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090  
Телефон: (383) 363-49-80  
Факс (383) 333-12-78  
E-mail: [icg-adm@bionet.nsc.ru](mailto:icg-adm@bionet.nsc.ru)  
<http://www.bionet.nsc.ru>  
ИНН 5408100138/КПП 540801001  
ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

от 17.05.2019 № 15345-29-2141/432  
на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИЦиГ СО РАН  
член-корр., д.б.н. Кочетов А.В.



**ОТЗЫВ  
ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

на диссертацию Ильичевой Надежды Викторовны «Белки экстрахромосомных компонентов кариосферы и РНК ядер ооцитов при формировании кариосферы с капсулой» представленной к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03. —молекулярная биология

**Основные научные результаты и их актуальность для науки и практики**

Изучение особенностей организации различных компартментов в ядре ооцитов животных относится к актуальным проблемам современной биологии и важно для понимания механизмов биологии развития. Одним из уникальных образований в ядре ооцитов многих организмов является кариосфера, эволюционно-консервативная структура, выявляемая в нуклеоплазме на стадии диплотены профазы мейоза. До настоящего времени неясными остаются функциональная роль кариосферы в мейозе и причины ее морфологической вариабельности в ооцитах разных животных, а также функция ассоциированных с ней экстрахромосомных компонентов и изменение активности генома на поздних стадиях оогенеза. Одним из перспективных подходов для выяснения механизмов формирования и реорганизации кариосферы в процессе онтогенеза, является комплексное использование цитологических и молекулярных методов при одновременном изучении организации кариосфер с разной морфологией.

Именно этот подход и был использован в настоящей работе, которая посвящена исследованию особенностей белкового состава экстрахромосомных компонентов в отличающихся по организации кариосфер мыши (кариосфера без капсулы) и травяной лягушки (кариосфера с капсулой), а также анализу транскриптома в ядре поздних ооцитов травяной лягушки *R. Temporaria*. При этом сравнительный анализ организации кариосфер был проведен автором на разных стадиях их формирования: 1-й и 2-й стадиях в ооцитах мыши и 5-й и 6-й стадиях в ооцитах лягушки. Для выполнения поставленных задач диссертантом был использован широкий набор цитологических, иммуногистохимических, а также современных молекулярных методов, включая секвенирование и биоинформатическую обработку данных для оценки состава РНК в ядре ооцита и получение антител к одному из исследуемых белков (теломер-связывающему белку TRF2).

В результате выполнения работы получены новые данные о присутствии и распределении ряда значимых белков в центральном теле кариосферы ооцитов мыши и капсулы кариосферы лягушки. Определены сходства и различия в составе белков экстрахромосомных компонентов кариосфер этих организмов. Впервые охарактеризовано перераспределение белков в ядрах ооцитов мыши и лягушки на разных стадиях формирования кариосферы. Подробно исследована функция F-актина в составе капсулы кариосферы лягушки и установлено, что актиновые филаменты играют роль структурного каркаса и способствуют правильной организации хромосом, а также компонентов капсулы - ядрышек и волокнистых структур. Впервые проведен анализ транскриптома ядер поздних ооцитов *R. Temporaria* и выявлено значительное количество тандемных повторов, некоторых классов мобильных элементов, генов рРНК и малых РНК. Таким образом, проведенное диссертантом исследование является одной из первых работ по сравнительному анализу состава и распределения ряда значимых белков в экстрахромосомных компонентах кариосфер ооцитов мыши и травяной лягушки, а также содержит характеристику состава некодирующих РНК кариосферы лягушки, что важно для понимания механизмов распределения подобных РНК в оогенезе. Выполненная работа имеет фундаментальное значение для понимания механизмов оогенеза и биологии развития. Полученная в работе новая информация об организации кариосфер, состава и динамики белков внехромосомных доменов у двух видов животных, представляет также интерес в свете развития репродуктивных технологий человека и животных.

### **Общая оценка работы**

Диссертационная работа написана хорошим языком по стандартной схеме, представлена на 115 страницах машинописного текста. Список литературы состоит из 219 ссылок. Большинство цитированных статей имеют отношение к тематике диссертации и опубликованы в ведущих научных журналах.

В первой главе, изложенной на 33 страницах приведен **обзор литературы**, посвященный общему описанию и особенностям организации кариосферы у разных видов животных, характеристике ассоциированных с ней внехромосомных ядерных доменов, а также их белкового состава и этапам реорганизации кариосферы в процессе оогенеза животных. Описаны молекулярные

механизмы формирования кариосферы и динамика транскрипционной активности ядра в период ее выявления. Большое внимание в обзоре литературы посвящено характеристике белков, идентифицированных в центральном теле кариосфер и капсуле кариосфер другой морфологии. В заключительной части обзора литературы приведена классификация повторяющихся последовательностей ДНК, включая диспергированные и тандемные повторы, а также представлены имеющиеся данные об уровне транскрипции в процессе оогенеза. В целом обзор литературы представляет достаточно полную характеристику кариосферы и связанных с ее формированием внутриядерных преобразований ооцитов в процессе оогенеза.

Во второй главе на 9 страницах приведено описание методов, использованных в работе. И использованные для выполнения работы **Методы** являются современными, соответствуют поставленным задачам, и включают как цитологический анализ, с использованием иммуноцитохимии, гибридизации *in situ*, конфокальной микроскопии, так и методы молекулярной биологии и биоинформатики. Все использованные методы описаны в необходимом объеме и достаточно подробно.

Третья глава описывает **результаты** работы. Глава изложена на 31 страницах и содержит 30 рисунков и 6 таблиц. В главе на большом количестве хорошего иллюстративного материала подробно и логично изложены основные результаты проведенной работы.

Четвертая глава посвящена **обсуждению полученных результатов**, которые изложены на 8 страницах. В обсуждении достаточно логично и полно описано сравнение полученных результатов с литературными данными, обоснованы выводы работы, свидетельствующие о научной значимости и новизне работы.

**Выводы** работы достаточно хорошо сформулированы и подтверждены хорошо проиллюстрированным в главе о результатах экспериментальным материалом.

Автореферат написан достаточно информативно и четко и полностью соответствует диссертационной работе.

#### **Научно-практическая значимость**

Проведенное исследование имеет фундаментальное значение, и вносит существенный вклад в понимание особенностей организации и формирования кариосферы ядра ооцитов животных в процессе оогенеза. Полученные данные дополняют представления о белковом составе экстрахромосомных компонентов кариосферы мыши и лягушки. Исследовано влияние деполимеризации F-актина на структуру капсулы кариосферы и транскрипцию в поздних ооцитах лягушки. Впервые установлено, что актиновые филаменты составляют структурный каркас капсулы кариосферы и способствуют правильной организации хромосом, а также составляющих компонентов капсулы. Впервые проведен анализ транскриптома поздних ооцитов лягушки и обнаружены транскрипты ранее неизвестных тандемных повторов. Результаты работы могут быть полезны в свете развития репродуктивных технологий при использовании ооцитов животных. Полученные результаты могут быть также использованы при чтении курсов лекций в вузах, например, в Новосибирском, Санкт-Петербургском и Московском университетах.

## Общие замечания

Следует отметить, что, несмотря на информативность и широкую освещенность современного состояния исследований организации кариосфер, в конце обзора литературы отсутствует заключение, подводящее итог накопленных в литературе данных и подчеркивающее актуальность и необходимость решения поставленных в диссертационной работе задач.

В некоторых абзацах раздела «Обсуждение» стиль написания, используемый автором не совсем удачен, так как не дает возможность определить, кому принадлежит предположение, основанное на полученных результатах- диссертанту или автору опубликованной ранее статьи. Например, на стр. 86 написано: «В КК лягушки также обнаружены ламины А- и В-типов, однако динамики в их распределении на 5-й и 6-й стадиях не обнаружено. Оба типа ламинов присутствуют в ядерной оболочке. Предположительно, наличие ламинов в экстрахромосомных компонентах кариосферы может отражать их роль в организации хроматина в ооците перед созреванием (Fulka, Langerova, 2014)».

Иногда в предложениях из текста этого раздела не хватает выражений – «нами показано», «согласно нашим данным», а также – «ранее было показано».

К сожалению, в разделе «Обсуждение», так же, как и в обзоре литературы, отсутствует заключение, подводящее итог и, в сжатой форме демонстрирующее основные новые результаты, полученные автором. Было бы очень полезно, если бы автор привел в заключении обсуждения схему демонстрирующую динамику состава белков кариосфер на разных стадиях их формирования.

Раздел материалы и методы, содержит много протоколов с детальным описанием экспериментов, однако приведена лишь одна ссылка.

Следует также отметить некоторую небрежность при оформлении рисунков и подписей к ним:

- На Рис. 6 (стр.54) отсутствует буква Б над снимком электрофореза;
- размеры шрифта на Рис 6 и Рис. 7 отличаются;
- На Рис. 9 для обозначения снимков использованы латинские буквы, а на предыдущих снимках- русские буквы,
- По разному обозначено совмещение снимков при иммуногистохимии:

на Рис.9-12- как М; на Рис. 14 –как merge, на Рис 16 и далее как «совмещение»

В автореферате написано, что диссертация содержит 7 таблиц, однако в тексте диссертации приведено только 6 таблиц.

Высказанные замечания касаются в основном редактирования и улучшений, но не умаляют достоинств работы Н.В.Ильичевой.

## Заключение

Диссертация Ильичевой Надежды Викторовны «Белки экстрахромосомных компонентов кариосферы и РНК ядер ооцитов при формировании кариосферы с капсулой» представленная к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03. – молекулярная биология, обладает ярко выраженной научной новизной. Выводы обоснованы полученными данными.

