ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 462.001.04, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ – ФЕДЕРАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ БИОФИЗИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ИМЕНИ А.И. БУРНАЗЯНА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 31 января 2019 № 1

О присуждении Жикривецкой Светлане Олеговне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Транскриптомный анализ стресс-ответа и старения *Drosophila melanogaster*» по специальности 03.01.01 – «Радиобиология» принята к защите 26.11.2018 года, протокол № 10 диссертационным советом Д 462.001.04 на базе Федерального Государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (123182, г. Москва, ул. Живописная, 46; приказ №502/нк от 24.05.2017 г.)

Соискатель Жикривецкая Светлана Олеговна, 1990 года рождения.

В 2013 г. окончила Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, по специальности «Генетика», работает в должности биолога-исследователя лаборатории генотипирования Центра генетики и репродуктивной медицины «Генетико». С 2014 по 2018 гг. Жикривецкая С. О. проходила обучение в аспирантуре федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Диссертация выполнена на базе лаборатории Генетики старения и продолжительности жизни федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)» Министерства образования и науки Российской Федерации и лаборатории молекулярной радиобиологии и

геронтологии Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук.

Научный руководитель: Москалёв Алексей Александрович – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, профессор РАН, заведующий лабораторией молекулярной радиобиологии и геронтологии Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, заведующий лабораторией генетики продолжительности жизни и старения Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

1. Засухина Галина Дмитриевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник группы мутагенеза и репарации отдела генетической безопасности Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук;
2. Гудков Сергей Владимирович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории макрокинетики неравновесных процессов Научного центра волновых исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей физики имени А.М. Прохорова Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном отзыве, утвержденном Директором ФГБУН ИБР РАН доктором биологических наук, членом-корреспондентом РАН Андреем Валентиновичем Васильевым, подписанном доктором биологических наук Симоновой Ольгой Борисовной, заведующей лабораторией молекулярно-генетических процессов развития ФГБУН ИБР РАН, указал, что диссертационная работа Жикривецкой Светланы Олеговны является научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – обнаружение общих адаптивных механизмов ответа на малые дозы стресс-факторов разного типа: ионизирующая радиация, голодание, холодовой стресс, инфекционное заражение, имеющей существенное

значение для специальности 03.01.01 – радиобиологии. По актуальности темы, научной новизне и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», а её автор, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.01 – радиобиология.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 4 работы в рецензируемых научных изданиях. В работах полностью отражены результаты диссертационного исследования, авторский вклад 70%, общий объем публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях 43 печатных листа.

Наиболее значительные работы:

1. Svetlana Zhikrivetskaya, Darya Peregudova, Anton Danilov, Ekaterina Plyusnina, George Krasnov, Alexey Dmitriev, Anna Kudryavtseva, Mikhail Shaposhnikov and Alexey Moskalev. Effect of Low Doses (5-40 cGy) of Gamma-irradiation on Lifespan and Stress-related genes Expression Profile in Drosophila melanogaster. // PLoS One. – 2015. – Vol.10. – №8 – DOI: 10.1371/journal.pone.0133840. / Scopus, Web of Science, IF= 4.411

2. Alexey Moskalev, Svetlana Zhikrivetskaya, George Krasnov, Mikhail Shaposhnikov, Ekaterina Proshkina, Dmitry Borisoglebsky, Anton Danilov, Darya Peregudova, Irina Sharapova, Eugenia Dobrovolskaya, Ilya Solovev, Nadezhda Zemskaya, Lyubov Shilova, Anastasia Snezhkina, and Anna Kudryavtseva. A comparison of the transcriptome of Drosophila melanogaster in response to entomopathogenic fungus, ionizing radiation, starvation and cold shock. // BMC Genomics. – 2015. – Vol.16(Suppl 13). – S8 – DOI: 10.1186/1471-2164-16-S13-S8/ Scopus, Web of Science, IF= 4.206

3. Moskalev A, Zhikrivetskaya S, Shaposhnikov M, Dobrovolskaya E, Gurinovich R, Kuryan O, Pashuk A, Jellen LC, Aliper A, Peregudov A, Zhavoronkov A. Aging Chart: a community resource for rapid exploratory pathway analysis of age-related processes. // Nucleic Acids Res. 2016. Jan 4;44(D1):D894-9. DOI: 10.1093/nar/gkv1287/ Scopus, Web of Science, IF= 10.162

4. Lashmanova E, Proshkina E, Zhikrivetskaya S, Shevchenko O, Marusich E, Leonov S, Melerzanov A, Zhavoronkov A, Moskalev A. Fucoxanthin increases lifespan of

Drosophila melanogaster and Caenorhabditis elegans.// Pharmacol Res. 2015. Vol.100.P.228-241 DOI: 10.1016/j.phrs.2015.08.009. Scopus, Web of Science = 4.816

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

Ведущей организации - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук без принципиальных замечаний;

официального оппонента – доктора медицинских наук, профессора Засухиной Г.Д. (группа мутагенеза и репарации отдела генетической безопасности Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук) без принципиальных замечаний;

официального оппонента - доктора биологических наук Гудкова С.В. (лаборатория макрокинетики неравновесных процессов Научного центра волновых исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей физики имени А.М. Прохорова Российской академии наук) без принципиальных замечаний.

Получено 5 отзывов на автореферат. 1) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, подписанный и.о. заведующего лабораторией молекулярно-клеточной радиобиологии, к. б. н., Блиновой Евгенией Андреевной, имеются замечания редакционного характера: В автореферате автор указывает, что согласно литературным данным были выбраны «дозы радиации ранее неизученные (5 и 10 сГр) в плане влияния на экспрессию генов…» однако в литературе имеются данные об изучении доз облучения от 1 до 10 сГр на экспрессию различных генов, вероятно следует указать, что это касается экспрессии генов у Drosophila melanogaster? Из текста автореферата не ясно, почему облучение в малых дозах проводилось у особей на стадии имаго, а облучение в больших дозах у особей в возрасте 5-ти дней? 2) Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба –- филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, подписанный научным сотрудником лаборатории радиационной биохимии отдела радиационной биохимии, к. б. н., Якимовой Анной Олеговной, имеются вопросы: В разделе «Материалы и методы»

автор указывает, что при исследовании влияния различных факторов на продолжительность жизни дрозофил особи пересаживались на новую питательную среду раз в 2 недели. При этом, общепринятым подходом является смена среды раз в 2-3 дня, чтобы исключить влияние случайных факторов (голодание, случайная гибель особей, влипших в переросшие дрожжи и т.п.). Чем обусловлен выбор столь редкой периодичности в смене среды, и не могли ли это, по мнению автора, исказить полученные результаты? Автор очень серьезно подходит к выбору референсных генов при анализе изменения уровня экспрессии генов интереса методом ПЦР в реальном времени, но, к сожалению, не указывает, какие именно гены проявили стабильность экспрессии в условиях действия различных стрессирующих факторов. Хотелось бы узнать какие ген в результате были выбраны в качестве референсных? Интересными представляются данные по холодовому шоку: влияние этого стрессирующего фактора, в отличие от высоких доз радиации, голодания и грибковой инфекции, не оказывает существенного влияния на продолжительность жизни особей, но вызывает изменение экспрессии значительно большего количества (примерно трети!) генов у дрозофилы. За счет каких механизмов, по мнению автора, в данном случае может быть реализовано столь масштабное изменение регуляции экспрессии на уровне генома? 3) Объединенного института ядерных исследований, подписанный начальником сектора Лаборатории радиационной биологии, д.ф.-м.н., Бугаем Александром Николаевичем, без замечаний; 4) Федерального государственного унитарного предприятия Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России, подписанный старшим научным сотрудником и заведующим лабораторией радиационной биохимии, к. м. н., Рабинович Евгенией Израиловной, имеются замечания: На наш взгляд, название диссертационной работы является не совсем корректным, поскольку «транскриптомному анализу! Подвергалась «Drosophila melanogaster», но не «стресс-ответ и старение». Относительно горметического эффекта радиации цитируется много работ иностранных авторов, но, к сожалению, нет упоминаний исследований отечественных ученых, изучавших этот эффект, в частности Л.А. Булдакова, академика РАМН, бывшего сотрудника ФМБЦ им. А.И. Бурназяна. В книге Л.А. Булдакова «Радиоактивное излучение и здоровье» (2003) описан и доказан горметический эффект проникающих излучений в малых дозах, заключающийся в

том, что при малых дозах излучения, превышающих природный уровень в 10-100 раз, возрастает средняя продолжительность жизни экспериментальных животных и человека, уменьшается частота заболевания злокачественными новообразованиями, увеличивается фертильность. Желательно привести в большее соответствие название, цели, положения и выводы работы. Так, в работе не приводятся собственные данные, которые бы указывали на связь экспрессии генов дрозофилы со старением, хотя в названии этот эффект присутствует. В то же время активно обсуждаются признаки гормезиса, зарегистрированные по тесту увеличения продолжительности жизни только при одной дозе облучения у самцов (10 сГр) и при двух дозах – у самок (5 и 40 сГр). Возможно, данное явление, еще не очень ясное самому автору, не стоит выносить на защиту; 5) Федерального государственного бюджетного учреждения Научно исследовательского центра Курчатовский институт, подписанный старшим научным сотрудником лаборатории палео- и этногенетики, к. б. н., Расторгуевым Сергеем Михайловичем, без замечаний.

Все отзывы положительные.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их широкой известностью своими достижениями в данной отрасли науки, направлением исследований по тематике диссертации, наличием публикаций в соответствующей сфере исследования и способностью определить научную и практическую ценность диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Получены данные о динамике изменения экспрессии генов, вовлеченных в стресс-ответ, после воздействия ионизирующего излучения у особей *Drosophila melanogaster*.

Проведен анализ транскрипционных профилей у самцов *Drosophila melanogaster* после воздействия ионизирующего излучения в дозах 144 Гр, 360 Гр, 864 Гр, позволивший выявить дифференциально экспрессирующиеся гены, функциональные группы и пути, обогащенные этими генами. Анализ экспрессии генов, разделенных на две группы: участвующих в ответе на двунитевые разрывы ДНК и на увеличение количества активных форм кислорода, - позволил выявить изменение относительного

вклада различных механизмов развития стресса в общий наблюдаемый эффект в зависимости от дозы.

Впервые проведен сравнительный анализ транскрипционных профилей самцов *Drosophila melanogaster* после воздействия 4 типов стресс-факторов на разном уровне: ионизирующее излучение, холодовой шок, инфекция энтомопатогенными грибками, голодание, - который позволил выявить новые пути, участвующие в активации ответа на стресс различного типа и модальности. На основе анализа дифференциальной экспрессии генов этих путей предложены гены-кандидаты ключевых регуляторных элементов стресс-ответа, воздействие на которые прямым путем может привести к увеличению продолжительности жизни.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные автором данные обладают высокой степенью научной новизны и представляют важный научный и практический вклад в области радиационной биологии и молекулярной генетики, в понимание биологических процессов, участвующих в ответе на малые дозы ионизирующего излучения и другие стресс-факторы разного типа.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что полученные данные вносят важный вклад в понимание общих для разных типов стресс-факторов путей ответа, ключевые элементы которых могут играть важную роль в горметическом эффекте и использоваться для создания терапевтических инструментов, направленных на увеличение продолжительности жизни и замедление процессов старения. Выявленные экспрессионные особенности стресс-ответа могут также использоваться в качестве биомаркеров воздействия различных стресс-факторов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты получены на сертифицированном оборудовании, с применением современных средств измерений высокой точности, проведением большого количества экспериментов с достаточной воспроизводимостью, использованием современных инструментов и подходов для анализа больших объемов данных и их статистической обработки с заданной вероятностью и необходимым количеством биологических и технических

повторностей; сопоставлением результатов, полученных разными методами, а также сравнением с аналогичными результатами, полученными другими авторами.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в получении исходных данных и проведении научных экспериментов в лаборатории, анализе и обработке экспериментальных данных, поиске и исследовании данных литературы, получении всех основных результатов работы и подготовке публикаций.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» Постановление Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

На заседании 31.01.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить ученую степень кандидата биологических наук Жикривецкой Светлане Олеговне на основании протокола голосования.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 11 докторов наук по профилю рассматриваемой диссертации 03.01.01 – «Радиобиология» (биологические науки), участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 16 человек, против – 1, недействительных бюллетеней – 2.

Заместитель председателя
диссертационного совета Бушманов Андрей Юрьевич

Ученый секретарь
диссертационного совета Шандала Наталия Константиновна

31.01.2019 г.