

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.214.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ИНСТИТУТА ОБЩЕЙ ГЕНЕТИКИ ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ  
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 24.05.2016 протокол № 3

О присуждении Козлову Евгению Николаевичу, гражданину РФ,  
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Анализ экспрессии генов капсидных белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) в гетерологичных системах – культурах клеток млекопитающих и трансгенных линиях дрозофилы» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите «18» марта 2016 г., протокол № 2, диссертационным советом Д 002.214.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), Москва, 119991, ГСП-1, ул. Губкина, д. 3, приказ Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Козлов Евгений Николаевич, 1984 года рождения, в 2007 году окончил Южный Федеральный Университет по специальности биохимия.

В 2010 году Козлов Е.Н. поступил на работу в лаб. генетических основ биоразнообразия Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, где продолжает работать по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории генетических основ биоразнообразия Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

Научный руководитель – д.б.н., проф. Муха Дмитрий Владимирович,  
зав. лаб. генетических основ биоразнообразия Федерального

государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

Официальные оппоненты: Нефедова Лидия Николаевна – д.б.н. (специальность – 03.02.07 генетика), доцент кафедры генетики Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова (МГУ им. М.В. Ломоносова); Скоблов Михаил Юрьевич – к.б.н. (специальность – 03.02.07 генетика), ведущий научный сотрудник лаборатории генетической эпидемиологии Медико-генетического научного центра (ФГБНУ «МГНЦ»), дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук (ИБР РАН) в своем положительном заключении, подписанным Симоновой Ольгой Борисовной, к.б.н., заведующей лабораторией регуляции морфогенеза, указали, что по своему содержанию, уровню выполнения научных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов, диссертация соответствует заявленной специальности. Ответы на замечания в работе см. стенограмму заседания.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ по теме диссертации. Работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 3; в тематических научных сборниках и в материалах всероссийских и международных конференций - 4. Научные результаты, изложенные в диссертационной работе, получены соискателем лично, либо при его непосредственном участии. Наиболее значительные публикации в рецензируемых научных изданиях: 1. **Козлов Е.Н.**, Мартынова Е.У., Рощина Н.В., Каракозова М.В. и Муха Д.В. (2016) Экспрессия кДНК гена капсидного белка VP2 денсовируса рыжего таракана в трансгенной линии *Drosophila melanogaster* // Генетика, том 52, № 4, с. 503–508. 2. **Козлов Е.Н.** и Муха Д.В. (2015). Культура клеток млекопитающих как модель для изучения внутриклеточного транспорта белков денсовирусов // Генетика, том 51, № 2, с. 271–276. 3.

Мартынова Е.У., **Козлов Е.Н.**, Муха Д.В. (2012) Наночастицы: перспективы использования в медицине и ветеринарии // Успехи современной биологии, 132, № 5, с. 435 – 447. 4. Martynova E.U., **Kozlov E.N.**, Kapelinskaya T.V., Mukha D.V. (2012) The intracellular localization of regulatory and capsid proteins of the densovirus of German cockroach, *Blattella germanica* // The FEBS Journal, V. 279, Suppl. 1, P. 445.

На диссертацию и автореферат отзывы прислали: 1.Ганушкина Л.А. - д.б.н., зав. отделом медицинской энтомологии НИИ медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского, г. Москва; 2. Калмыкова А.И.- д.б.н., зав. лаб. исследования геномных повторов эукариот Института молекулярной генетики РАН, г. Москва; 3. Кокшарова О.А.- д.б.н., вед. науч. сотр. НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва; 4. Рыбина О.Б.- к.б.н., науч. сотр. лаб. геномной изменчивости Института молекулярной генетики РАН, г. Москва; 5. Саранцева С.В. - д.б.н., зам. директора по научной работе «Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова», НИЦ «Курчатовский институт», зав. лаб. экспериментальной и прикладной генетики, г. Санкт-Петербург. Все отзывы положительные, критические замечания отсутствуют.

Выбор официальных оппонентов определяется их большим опытом работы в области геномных и молекулярно-генетических исследований, изучении врожденного иммунитета дрозофилы, большого опыта в транскриптомных исследованиях. Выбор ИБР РАН в качестве ведущей организации обосновывается высоким уровнем проводимых в ней исследований в области молекулярной биологии, геномики, системной биологии, биоинформатики, молекулярной и общей генетики, механизмов реализации генетической информации и клеточной биологии.

Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований: показана возможность использования культур клеток млекопитающих для изучения отдельных аспектов жизнедеятельности

денсовирусов – в частности, изучение сигналов ядерно-цитоплазматического транспорта. Получены данные, указывающие на функциональную значимость сигналов ядерного импорта и ядерного экспорта, обнаруженных методом *in silico* в последовательностях капсидных белков BgDV1, предложен механизм их участия в развитии инфекции денсовируса. Получен ряд трансгенных линий дрозофилы, содержащих в геноме вставку последовательностей, кодирующих как нативные, так и мутантные формы капсидных белков VP2 и VP3 вируса BgDV1. Обнаружен механизм, препятствующей гетерологичной экспрессии чужеродных вирусных белков, который выражается в альтернативном сплайсинге вирусных транскриптов. При сравнении транскриптомов мух, экспрессирующих нативную последовательность кДНК капсидного белка VP2 и последовательность кДНК VP2 с нарушенным сигналом ядерной локализации (NLS) показано, что экспрессия вирусных последовательностей, кодирующих белок с нативным сигналом NLS, связана с ослаблением транскрипционной активности генов, ответственных за врожденный иммунный ответ *Drosophila*.

**Теоретическая значимость исследования:** впервые показана функциональная значимость сигналов ядерно-цитоплазматического транспорта капсидных белков денсовируса BgDV1 и возможность их изучения в гетерологичной системе - культурах клеток млекопитающих. Впервые получен ряд трансгенных линий дрозофил, содержащих в геноме вставку вирусных белков капсида денсовируса BgDV1. Описан новый возможный механизм защиты от экспрессии чужеродных белков в трансгенных линиях *Drosophila melanogaster*, который заключается в индукции альтернативного сплайсинга гетерологично экспрессируемых вирусных транскриптов.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики:** изучаемый в работе денсовирус BgDV1 относится к подсемейству

*Densovirinae*, представители которого поражают как хозяйственно ценные виды, так и синантропных паразитов (рыжий таракан). Полученные новые данные по биологии денсовируса BgDV1 могут быть использованы для борьбы с вредоносными вирусами, для разработки новых методов борьбы с синантропными паразитами и создания векторов на базе вирусоподобных частиц.

**Оценка достоверности результатов исследования:** результаты получены с использованием современных методов культивирования клеток млекопитающих, получения генно-инженерных конструкций с помощью методов ПЦР и клонирования, иммуногистохимическое окрашивание препаратов культур клеток, сайт-направленного мутагенеза, получения трансгенных линий мух дрозофилы с помощью микроинъекций, ПЦР в реальном времени и др. Автором показана воспроизводимость результатов в биологических повторностях, в экспериментах были использованы положительные и отрицательные контроли, ключевые результаты были продемонстрированы различными методами. Результаты диссертационной работы согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике.

**Личный вклад соискателя** заключается в участии на всех этапах выполнения работы, а именно: получении векторных конструкций, постановке трансфекции культур клеток, окраске клеток антителами и конфокальной иммуно флуорисцентной микроскопии, получении трансгенных линий *Drosophila melanogaster*, постановке скрещиваний, выделении РНК и получении кДНК, анализ экспрессии белков с помощью Вестерн блота, сайт-направленный мутагенез, ПЦР в реальном времени, анализ данных по секвенированию нового поколения. Автор лично проводил обработку полученных результатов и оформлял результаты для представления в виде тезисов и докладов на научных конференциях, а также

принимал участие в написании и опубликовании статей по результатам работы.

Диссертация соответствует критериям «Положения о присуждении ученых степеней» № 842 от 24 сентября 2013 г. Минобрнауки РФ, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени.

На заседании 24 мая 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Козлову Евгению Николаевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 16, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель  
диссертационного совета



Захаров-Гезехус Илья Артемьевич

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Синельщикова Татьяна Аркадьевна

27.05.2016 г.