

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.088.01  
(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 22.12.2022 г. протокол № 44

О присуждении Синюковой Вере Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Поиск функциональных амилоидов в яичниках *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*» по специальности 1.5.7. – генетика принята к защите «29» сентября 2022 г., протокол № 30, диссертационным советом 24.1.088.01 (Д 002.214.01) на базе федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова российской академии наук (ИОГен РАН), 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3, приказ Минобрнауки РФ №105/нк от 11.04.2012.

Синюкова Вера Александровна, 1993 года рождения, окончила в 2017 г. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», биологический факультет, кафедру генетики, и получила специальность «Генетика, молекулярная генетика».

Диссертационная работа была выполнена во время обучения в аспирантуре (2017-2022 гг.) в лаборатории генетического моделирования болезней человека Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук. Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано ИОГен РАН 26 октября 2021 г.

В настоящее время место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, должность: младший научный сотрудник лаборатория генетического моделирования болезней человека.

Научный руководитель – **Галкин Алексей Петрович**, доктор биологических наук, профессор, временно исполняющий обязанности директора, заведующий лабораторией генетического моделирования болезней человека Санкт-Петербургского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

#### **Официальные оппоненты:**

**Саранцева Светлана Владимировна**, доктор биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией экспериментальной и прикладной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», г. Санкт-Петербург.

**Савватеева-Попова Елена Владимировна**, доктор биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, заведующая лабораторией нейрогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы. Заданы вопросы, высказаны незначительные замечания и комментарии, в основном, носящие дискуссионный характер. Высказанные замечания не являются принципиальными и не снижают научной и практической значимости представленных в диссертации результатов.

Выбор официальных оппонентов определялся их большим опытом в области генетики и молекулярной биологии, наличием публикаций в ведущих рецензируемых журналах. Выбор ведущей организации обусловлен ее фундаментальными и прикладными достижениями в сфере исследования соискателя, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва дала положительное заключение, подписанное Нефедовой Лидией Николаевной, доктором биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, профессором кафедры генетики биологического факультета МГУ. В заключении указано, что диссертационная работа является завершённой работой, выполненной на высоком методическом уровне с использованием «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Достоверность результатов не вызывает сомнений, выводы адекватны поставленным целям и результатам. Диссертация не вызывает серьезных замечаний. Ответ на отзыв представлен в стенограмме.

#### **Публикации в научных журналах:**

Соискатель имеет 6 публикаций в иностранных научных рецензируемых высокорейтинговых журналах, входящих в базу Web of Science и рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

1. Ryzhova T.A., Sopova J.V., Zadorsky S.P., Siniukova V.A., Sergeeva A.V., Nizhnikov A.A., Shenfeld A.A., Volkov K.V., Galkin A.P. Screening for

amyloid proteins in the yeast proteome. // *Curr Genet.* – 2017. – Vol. 64. – №2. – P. 469–478.

2. Sergeeva A.V., Sopova J.V., Belashova T.A., Siniukova V.A., Chirinskaite A.V., Galkin A.P. & Zadorsky S.P. Amyloid properties of the yeast cell wall protein Toh1 and its interaction with prion proteins Rnq1 and Sup35. // *Prion.* – 2019. – Vol. 13. – №1. – P. 21–32.

3. Sopova, J.V., Koshel, E.I., Belashova, T.A., Zadorsky S.P., Sergeeva A.V., Siniukova V.A., Shenfeld A.A., Velizhanina M.E., Volkov K.V., Nizhnikov A.A., Kachkin D.V., Gaginskaya, E.R., Galkin, A.P. RNA-binding protein FXR1 is presented in rat brain in amyloid form. // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9. – №1:18983.

4. Siniukova V.A., Sopova J.V., Galkina S.A., Galkin A.P. Search for functional amyloid structures in chicken and fruit fly female reproductive cells. // *Prion.* – 2020. – Vol. 14. – №1. – P. 278–282.

5. Chirinskaite A.V., Siniukova V.A., Velizhanina M.E., Sopova, J.V., Belashova, T.A., Zadorsky S.P. STXBP1 forms amyloid-like aggregates in rat brain and demonstrates amyloid properties in bacterial expression system. // *Prion.* – 2021. – Vol. 15. – №1. – P. 29–36.

6. Siniukova V.A., Galkina S.A., Galkin A.P. Thioflavin S binds non-amyloid protein structures in lampbrush chromosomes of *Gallus gallus domesticus*. // *Bio. Comm.* – 2022. – Vol. 67. – №1. – P. 57–62.

**На автореферат диссертации отзывы прислали:**

1. Дроздова Полина Борисовна, кандидат биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, ведущий научный сотрудник НИИ биологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», г. Иркутск. Отзыв положительный, без замечаний.

2. Антоненц Кирилл Сергеевич, кандидат биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, ведущий научный сотрудник

лаборатории протеомики надорганизменных систем Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Пушкин. Отзыв положительный. Есть замечания:

1. Чем обусловлен выбор двух столько удаленных друг от друга видов животных? 2. Какое возможное функциональное значение амилоидной агрегации белка Vtg2? 3. Ввиду такой сильной разницы в агрегации s36 между мутантной линией и линией дикого типа, проводилось ли сравнение последовательности данного белка и уровнем его продукции между линиями? 4. На рисунке 9б можно заметить наличие двух полос, несколько различающихся по молекулярной массе, при этом в линии дикого типа более тяжелая полоса представлена в растворимой фракции, тогда как более легкая в агрегированной, в связи с этим представлен ли белок s36 только в одной изоформе? Из замечаний стоит отметить, что ссылки на работы, в которых описан метод протеомного скрининга даны некорректно, стоит ссылаться на оригинальные работы, в которых метод был описан. Вывод о прямой связи между нарушением агрегации s36 и формированием специализированных структур выглядит недостаточно обоснованным, так как хромосомная перестройка захватывает протяженный участок хромосомы, а причины нарушения агрегации не установлены. Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.

3. Королев Владимир Геннадиевич, доктор биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ "Курчатовский институт", г. Гатчина. Отзыв положительный. Есть небольшие замечания. В качестве непринципиальных замечаний следует

отметить, что в выводах 4 и 5 автор употребляет разное название усиков в одном случае это плавательные усики в другом дыхательные, определение не встречающееся ранее по тексту, что вызывает вопрос один ли это орган или разные. По тексту часто встречается словосочетание литературные данные (стр. 10, 16, 23), правильнее писать данные литературы. Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.

4. Кушниров Виталий Владимирович, доктор биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», г. Москва. Отзыв положительный, замечания связаны с оформлением. Опечатка "кого красный" (стр. 11) забавна, но понятна и не вводит в заблуждение. Кстати, Конго пишется с большой буквы, в тексте же иногда с большой, но чаще с маленькой. А вот "HSP7C" (стр. 10) заставил задуматься. Может, это неизвестный мне маленький шаперон? Понадобилось открыть ссылку, чтобы понять, что это хорошо известный HSP70C. Есть вопросы и к подписям к рисункам. Рис. 3, Рис. 9: читателю приходится догадываться, что это иммуоблот, использованный метод должен быть назван. Рис. 4: "...тельца включения...формируют фибриллы". Все-таки, не тельца, а составляющий их белок. Рис. 11: "Антитела к белку s36, конъюгированные со вторичными антителами Alexa Fluor® 647, Goat anti-Rabbit IgG" – две ошибки в одной фразе. Рис. 3 был бы еще более убедителен, если бы авторы использовали простой прием, примененный на Рис. 12: нанести на форец препарат осадка без кипячения. Это показало бы, какая доля белка Vtg2 в осадке действительно нерастворима в SDS при комнатной температуре, что

характерно для амилоидов. Также в тексте было бы желательно объяснение, почему для полимеризации вителлогенина *in vitro* использовали его фрагмент, а не целый белок. Известно, что многие амилоиды человека, начиная с А-бета, образованы протеолитическими фрагментами, в то время как те же полные белки амилоид не образуют. Поэтому неясно, почему не использовали полный белок. Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.

5. Сойдла Тыну Рихович, доктор биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук, г. Санкт-Петербург. Отзыв положительный. Встречаются незначительные огрехи. Так, подписи к рис. 3 на стр. 11 автор дает расшифровку "S – супернатант, P – осадок". Странное сокращение Если S – супернатант, то P – пеллет, в скобках "осадок." На стр.23 читаем "которые н окрашиваются". Непонятно, " Н" в смысле "не" или "и"? Нет последовательности в обозначении красителей. Автор пишет то "красителем Конго красный", (стр. 15, выводы на стр. 23 ) , то "красителем конго красный" стр. 9, 14. 17, 22). Та же проблема с другим веществом. Пишется то краситель Тиофлавин S. (стр. 15, выводы на стр. 23 ) то краситель тиофлавин S (стр. 4). Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.
6. Митькевич О.В., кандидат химических наук по специальности 02.00.15 – кинетика и катализ, старший научный сотрудник Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, г. Москва. Отзыв положительный. Замечания связаны с оформлением рисунков. Так, в подписи к рис. 4 указано, что изображено на рис. А, Б и В, а на самих картинках

никаких буквенных обозначений нет. На некоторых рисунках входящие в них картинки обозначены латинскими буквами (А, В, С) а на других – кириллицей (А, Б и В). Надписи на рисунках сделаны то кириллицей, то латиницей (например, на рис. 5 можно было написать по-русски «фазовый контраст», «относительные единицы флуоресценции» и т.д.) То же самое и на рис. 6. В подписи к рис. 9 не написано, чем проявляли блоттинг. Подпись к рис. 12 не содержит достаточно информации, относящейся к части В, и приходится разбираться, что нанесено на форец. Также фибриллы не получают (по крайней мере, до настоящего времени) с помощью электронного микроскопа, а только наблюдают в него. Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.

**Диссертационный совет отмечает,** что соискателем проведен масштабный поиск потенциально амилоидных белков в яичниках таких классических модельных объектов генетики, как *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*, а также дальнейшее исследование идентифицированных белков-кандидатов.

**Теоретическая значимость исследования** заключается в первую очередь в том, что полученные результаты позволяют сделать заключение, согласно которому функциональные амилоидные фибриллы в оболочках яиц и яйцеклеток эукариотических организмов имеют полифилетическое происхождение. Сопоставление полученных результатов с литературными данными показывает, что в ходе эволюции функциональные амилоидные фибриллы возникали многократно и независимо друг от друга. Это один из ярких примеров эволюционного параллелизма. В ходе работы идентифицирован белок s36, который формирует амилоидный каркас специализированных структур в оболочке яиц *Drosophila melanogaster*. Проведённые исследования показали, что амилоидные фибриллы являются конститутивным компонентом этих специализированных структур, которые были выявлены более ста лет назад.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики:** в ходе работы успешно апробирован оригинальный метод протеомного скрининга амилоидов, который в дальнейшем может быть успешно использован для поиска патологических и функциональных амилоидных белков у любых организмов. Кроме того, впервые установлено, что краситель тиофлавин S способен связывать неамилоидные структуры на цитологических препаратах. Эти данные следует учитывать при использовании тиофлавина S для выявления амилоидов.

**Оценка достоверности результатов исследования:** диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне с применением современных генетических, микробиологических и биохимических методов. Все методы, использованные в исследовании, подробно описаны в работе. Результаты исследования представлены в виде 6-и статей в рецензируемых журналах. Промежуточные и итоговые результаты представлены на российских и международных конференциях.

**Личный вклад соискателя** заключается в выполнении большей части исследований. Автор принимал личное участие на всех этапах выполнения работы, участвовал в планировании и проведении всех экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, формулировке выводов и представлении результатов на конференциях. Все материалы, представленные в диссертации, обсуждались и публиковались совместно с соавторами и научным руководителем.

Диссертация Синюковой Веры Александровны «Поиск функциональных амилоидов в яичниках *Gallus gallus domesticus* и *Drosophila melanogaster*» полностью соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24 сентября 2013 года.

На заседании 22 декабря 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Синюковой Вере Александровне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 14 докторов наук по специальности 1.5.7. - генетика, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 14 человек, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель  
диссертационного совета  
Ученый секретарь  
диссертационного совета

  
Захаров-Гезехус И.А.  
  
Горячева И.И.

«22» декабря 2022 года

Подписи Захарова-Гезехуса И.А. и Горячевой И.И. удостоверяю

Директор ИОГен РАН



  
Кудрявцев А.М.