

## ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе  
Александра Владимировича Симоненко  
на тему «Роль генов *escargot* и *shuttle craft*, кодирующих нейрональные  
транскрипционные факторы, в контроле продолжительности жизни *Drosophila  
melanogaster*»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.7. «Генетика»

### Актуальность исследования

Диссертационная работа А.В.Симоненко посвящена актуальной проблеме биологии, имеющей важное теоретическое и прикладное значение, – изучению генетических механизмов, контролирующих развитие и старение живых организмов, имеет. Ключевой системой организма, контролирующей развитие и старение, является нервная система, управляющая всеми основными процессами высших организмов и их взаимодействием с внешней средой. Как для большинства количественных признаков, наследуемость продолжительности жизни составляет около 25%, однако поиски генетических регуляторов старения, представляют очень интересную и важную задачу для генетики и геронтологии. Открытие существования у высших организмов жестко детерминированной и высококонсервативной системы генетической регуляции развития нервной системы также явилось одним из важнейших основ молекулярной генетики и биологии развития, и выяснение деталей данной системы стало одной из самых важных и актуальных задач современной науки, потенциально позволяющих соотнести общие для всех паттерны и принципы развития с отдельными, известными по модельным организмам и системам фактами. Работа А.В.Симоненко выполнена в современной парадигме существования консервативной программы генетической регуляции нейрогенеза, от которой зависят общие принципы развития и функционирования живых организмов, и расширяет понимание генетического контроля паттернов развития, демонстрируя, что продолжительность жизни, а также структуры и функционирование нервной системы взрослого организма могут закладываться и определяться тонкими особенностями дифференциальной экспрессии генов на ранних этапах эмбрионального развития, внося важный вклад в понимание механизмов и значения этих сложных процессов.

### Научная новизна исследования

Выгодной особенностью использованного в диссертационной работе А.В.Симоненко подхода является то, что он основан изначально на достаточно широком скрининге генов-кандидатов, за которым следует полный экспериментальный цикл, корректно доказывающий, что имеет место не просто ассоциация, а прямое влияние гена на продолжительность жизни. При этом автор прямо демонстрирует, что мутация, влияющая на экспрессию исследуемых генов-транскрипционных регуляторов нейрогенеза *ste* и *esg*, изначально достоверно увеличивает продолжительность жизни, а полное восстановление контрольного генотипа возвращает к исходной как экспрессию гена-кандидата, так и фенотип такой линии с реверсией.

Еще одним интересным и важным принципом, который демонстрирует данная работа, является принципиальная возможность того, что гены, регулирующие развитие нервной системы на эмбриональной стадии онтогенеза, могут оказывать влияние на структуры личиночной нервной системы и продолжительность жизни, а также другие фенотипические особенности (в частности, локомоторную активность) взрослых особей. Интересным является как сам факт такого переноса эффекта в ряду клеточных поколений организма, несмотря на полный метаморфоз, так и обсуждение автором возможных путей такой передачи посредством измененной синаптической структуры и активности, с построением предполагаемых путей генетической регуляции, которые могут участвовать в данном процессе.

Еще одним важным и известным принципом, который демонстрирует работа А.В.Симоненко является известная зависимость генетической регуляции продолжительности жизни от пола экспериментального объекта. Хотя данный факт встречается в исследованиях старения, однако причины и механизмы во многих случаях неясны, и продемонстрированный в работе ряд случаев зависимости эффектов генетической регуляции фенотипа от пола, вместе с обсуждением возможных механизмов, безусловно, будет полезен для установления общих механизмов данного, еще недостаточно изученного, но важного явления.

#### **Структура и содержание работы, достоверность и обоснованность научных результатов**

Диссертационная работа А.В.Симоненко выполнена на 152 страницах, содержит 17 рисунков и одну таблицу, а также приложение с данными на 19 страницах, что соответствует рекомендуемому объему для диссертаций на соискание степени кандидата наук. Она построена по стандартному плану и содержит оглавление, введение, обзор литературы, а также разделы с описанием материалов и методов, результаты и обсуждение, и завершается заключением, выводами и библиографией с 407 процитированными источниками.

Диссертация начинается с Введения, в котором автор обосновывает актуальность выполнения данной работы, кратко описывает современное состояние исследований в данной области, четко конкретизирует поставленные цели и задачи и обосновывает их новизну, а также обосновывает степень достоверности полученных данных и описывает личный вклад в представленное в диссертационной работе А.В.Симоненко исследование. Обзор литературы состоит из двух глав, в которых автор описывает современное понимание консервативных генетических механизмов, обеспечивающих развитие нервной системы у высших организмов и обосновывает важность структуры и функций нервной системы в контроле важнейших функций организма, определяющих продолжительность жизни. Таким образом, ссылаясь на современные источники литературы, автор обосновывает цели и направленность экспериментальной части работы, посвященной изучению влияния консервативных генов нейрогенеза, транскрипционных регуляторов, работающих в эмбриональном развитии, на функционирование и продолжительность жизни взрослого организма. Отдельное внимание А.В.Симоненко посвящает обоснованию того, что изучаемые генетические механизмы, контролирующие развитие нервной системы, консервативны и их регуляция сохраняется в эволюционном ряду высших животных. На ряде примеров автор доказывает то, что выбранная модель дрозофилы

полностью адекватна задаче изучения общих закономерностей как развития нервной системы, так и связанных с ней аспектов контроля старения, и при этом оказывается более удобной моделью для изучения наиболее сложных структур и генетических механизмов, чем радикально более сложные высшие млекопитающие. Обзор хорошо структурирован и содержит всю информацию, необходимую для понимания современного состояния проблемы.

Разделы «Результаты» и «Обсуждение» логически вытекают друг из друга. При этом, оба они разделены на отдельное изложение и обсуждение полученных автором данных по обоим исследованным в работе генам, *shuttle craft* и *escargot*. Хочется заметить, что такой формат изложения в целом адекватен поставленным задачам и позволяет, с одной стороны, подробно рассмотреть полученные данные и особенности каждого из исследуемых генов, с другой стороны, свести их рассмотрение к общему итогу и выводам.

Итогом излагаемых и обсуждаемых автором результатов является выдвигаемая гипотеза о механизмах того, как осуществленные им генетические изменения в работе нейрональных факторов транскрипции, в результате мутаций и нокдауна, могут приводить к изменениям структуры и функционирования нервной системы и того, как это может влиять на продолжительность жизни и скорость старения.

В работе поставлены четкие задачи, которые выполнены в полном объеме. Принципиальных замечаний к работе нет. **Однако имеются вопросы:**

1. Основной использованный автором индикатор скорости старения, локомоторная активность, является, вероятно, наиболее адекватным из доступных в аналогичных исследованиях. Какие, по мнению автора, методические подходы позволят подтвердить сделанные выводы в дальнейших исследованиях?

2. Ген *esg* на высоком уровне экспрессируется не только в ЦНС, но и в пищеварительной системе личинок и имаго. Можно ли предположить, что его экспрессия связана с пролиферацией кишечных стволовых клеток? Есть ли потенциальные гены-мишени, транскрипцию которых может активировать *Esg*?

3. В опытах по измерению продолжительности жизни мух, мутантных по гену *esg*, использовали только девственных самцов и самок. Почему не смотрели продолжительность жизни скрещивавшихся самок?

4. Автор выдвигает принципиальную схему, в которой указывает потенциальные генетические мишени, которые могут опосредовать наблюдаемые в работе изменения и указывает, что она построена на основе баз данных Flybase и BioGRID. Хотелось бы видеть более подробное описание источников ее построения.

5. Аналогично, хорошо бы было продемонстрировать результаты поиска сайтов связывания промоторов, обнаруженных в программах PROMO 3.0.2 и REDfly, на рисунке.

6. Поскольку оба исследуемых гена являются транскрипционными факторами, напрашивается анализ экспрессии их потенциальных генов-мишеней. В работе написано, что в лаборатории был охарактеризован транскриптом эмбрионов с нокдауном гена *stc* и для анализа выбрано 5 генов, но непонятно, на каком основании выбраны именно они.

Отдельные недостатки, обнаруженные в изложении результатов, в целом не влияют на оценку проведенной работы и адекватность полученных данных.

Диссертационная работа завершается разделом «Заключение», содержащим собственно заключение, а также выводы, полностью адекватные полученным в ходе работы результатам.

## Заключение о научно-практической ценности работы и соответствии её требованиям ВАК

Диссертационная работа А.В.Симоненко является законченной и выполненной на высоком научном и методическом уровне работой. Она ставит и решает важные для современной генетики и геронтологии вопросы генетической регуляции развития и старения. Представленные в ней данные доказывают значение нейрональных транскрипционных регуляторов *stc* и *esg* в контроле продолжительности жизни и скорости старения модельного объекта *D. melanogaster*. Также хочется обратить внимание на отмечаемые автором особенности полового диморфизма описываемых механизмов, что, в совокупности с другими выводами, имеет как теоретическое, так и прикладное значение для расширения нашего понимания генетической регуляции процессов развития и старения живых организмов.

Результаты работы могут быть использованы в образовательных курсах по молекулярной биологии и молекулярной генетике, а также в научно-исследовательской работе, ведущейся в научных учреждениях биологического, медицинского и сельскохозяйственного профиля. Работа имеет практическую перспективу в контексте более широких научных областей. Проведенное в данной работе исследование общих регуляторных механизмов может иметь значение также для исследований в области медицины и сельского хозяйства, так как изучаемые закономерности касаются генетически консервативных механизмов регуляции эмбриогенеза, как показывают полученные в последние десятилетия данные, сохраняющих принципиальное значение у всех высших организмов.

Содержание диссертации опубликовано в 4 статьях, 3 из которых выпущены в рейтинговых международных журналах и журналах из списка ВАК. Результаты исследования были представлены на 9 российских и международных научных конференциях и отражены в их материалах и тезисах.

Содержание автореферата полностью отражает содержание диссертации, он корректно оформлен и адекватно иллюстрирован. Тематика диссертации полностью соответствует специальности 1.5.7 – «Генетика». В целом работа соответствует требованиям ВАК и Постановлению Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Александр Владимирович Симоненко, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «Генетика».

Профессор кафедры генетики биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова (МГУ имени М.В.Ломоносова) (Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12);

+7(916) 611 6203; lidia\_nefedova@mail.ru,

доктор биологических наук (специальность 1.5.7 – Генетика), доцент

Нефедова Лидия Николаевна

Подпись Л. Н. Нефедовой заверяю

Заместитель декана биологического факультета  
МГУ имени М.В.Ломоносова, проф. А.М. Рубцов.

