

«УТВЕРЖДАЮ»:

Проректор
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»

Федянин А.А.



«12» января 2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Диссертация Миляевой Полины Андреевны «Регуляция экспрессии мобильных элементов в соматических и генеративных тканях у *Drosophila melanogaster*» выполнена на кафедре генетики биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

В период подготовки диссертации соискатель Миляева Полина Андреевна обучалась в очной аспирантуре на кафедре генетики биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности по направлению 03.02.07. генетика с 01.10.2018 г. по 30.09.2022 г. С 2020 года по настоящее время работает на кафедре генетики биологического факультета МГУ в должности инженера-лаборанта 1-й категории.

Свидетельство об окончании аспирантуры, подтверждающее сдачу кандидатских экзаменов, выдано в 2022 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова». Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2024 г.

Научный руководитель – д.б.н, доцент Нефедова Лидия Николаевна, профессор кафедры генетики биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

По итогам рассмотрения диссертации «Регуляция экспрессии мобильных элементов в соматических и генеративных тканях у *Drosophila melanogaster*» принято следующее заключение:

Актуальность исследования

Одним из важных направлений современной генетики является исследование взаимной регуляции мобильных элементов и генома организма-хозяина. На сегодняшний день известно, что система piРНК-интерференции и контролируемые ей ретротранспозоны играют важную роль в регуляции генов во время гамето- и эмбриогенеза. Также в последнее десятилетие активно исследуется роль ретротранспозонов в развитии раковых опухолей. Феномен активации ретротранспозонов во время стресса был отмечен ещё Барбарой Мак-Клинтон, однако механизм регуляции ретротранспозонов во время стресса до сих пор не исследован полностью. *Drosophila melanogaster* является одним из наиболее популярных объектов для изучения взаимоконтроля ретротранспозонов и генома.

Ранее было показано, что экспрессия ретротранспозонов в голове дрозофилы может зависеть от функции белков AGO3 и Aub, а также выявлена связь между нарушением работы отдельных компонентов системы piРНК-интерференции, экспрессией ретротранспозонов и нарушениями работы центральной нервной системы у различных модельных объектов. Тем не менее, роль центральных белков системы piРНК-интерференции, PIWI и Rhino, в процессинге транскриптов кластеров piРНК и регуляции ретротранспозонов за пределами гонад до сих пор не установлена.

Регуляция активности ретротранспозонов при стрессе зависит от разных факторов, как от изменения экспрессии белков семейства Hsp, так и от наличия у ретротранспозонов в регуляторных областях сайтов связывания стресс-индуцируемых транскрипционных факторов. Вместе с тем нет описания единого механизма активации ретротранспозонов во время стресса. В связи с вышеперечисленными фактами можно предположить, что экспрессия ретротранспозонов в соматических тканях и при стрессе определяется как функциональностью системы piРНК-интерференции в этих тканях, так и особенностями регуляторных областей ретротранспозонов.

Научная новизна и практическая значимость исследования

В работе впервые было проанализировано геномное окружение мобильных элементов у дрозофилы по результатам полногеномного нанопорового секвенирования и была произведена проверка влияния геномного окружения на экспрессию ретротранспозона *Tirant* в условиях стресса. Была проанализирована экспрессия мобильных элементов в соматических тканях при нокдауне *rhino*, и было показано, что экспрессия некоторых

ретротранспозонов зависит от этого гена не только в тканях яичников, но и в соматических тканях. Также было показано, что сплайсинг и транскрипция некоторых кластеров piРНК также зависит от *rhino* в соматических тканях, в частности, в нервной системе. Было впервые продемонстрировано влияние мутации гена *piwi* на экспрессию ретротранспозонов в соматических тканях и проведён анализ связи гена *piwi* и особенностей транскрипции и процессинга одноцепочечных и двуцепочечных кластеров piРНК.

Практическая значимость работы заключается в возможности применения результатов как для исследований в области создания механизмов репрессии онкологических процессов, генотоксикологии и процессов регенерации у животных, так и в дальнейших исследованиях ретротранспозонов с последующим созданием новых систем генно-инженерных конструкций, индуцируемых внешними условиями.

Достоверность результатов проведенного исследования

Диссертационная работа является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических и биоинформатических методов. Результаты, полученные в работе, достоверны и воспроизводимы.

Соответствие диссертационной работы избранной специальности

Текст диссертации соответствует установленным правилам научного цитирования, библиографические ссылки оформлены корректно. Диссертационная работа соискателя Миляевой П.А. соответствует избранной специальности 1.5.7 – генетика (согласно п. 12, 14, 17 Паспорта номенклатуры специальностей научных работников по данной специальности).

Личный вклад соискателя

Личный вклад Миляевой П.А. присутствует на каждом этапе выполнения диссертации и заключается в разработке направления исследований, культивировании объекта исследования - *Drosophila melanogaster*, постановке скрещиваний для получения мух с нокадауном по гену *rhino*, и мух с компаундом мутаций *piwi*² и *piwi*³, проведении молекулярно-биологических экспериментов, биоинформатическом анализе, статистической обработке и интерпретации результатов, написании статей и тезисов.

Ценность научных работ соискателя и полнота изложения материалов диссертации в них

Полученные Миляевой П.А. результаты обладают высоким уровнем научной значимости. В представленной работе впервые выдвинута гипотеза, объясняющая необходимость тканеспецифичной и стресс-индуцируемой экспрессии ретротранспозонов, а также сделано предположение о существовании единых причин повышенной активности ретротранспозонов в генеративных тканях и в стрессовых условиях. Показано, что система

рiРНК-интерференции контролирует экспрессию ретротранспозонов за пределами гонад. Также было выявлено, что контроль процессинга транскриптов кластеров осуществляется PIWI и rhino в соматических тканях. Выявление механизмов регуляции экспрессии ретротранспозонов в отдельных тканях и во время стресса вносит существенный вклад в понимание взаимодействий ретротранспозонов и эукариотического генома, а также механизмов адаптации к различным видам стресса.

Исследование выполнено в рамках госбюджетной научной темы «Молекулярно-генетические механизмы нестабильности генома и мутагенеза у животных и человека» 13-1-21 (руководитель д.б.н., профессор, профессор кафедры генетики биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова А.И.Ким), Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология». Работа поддержана грантами РФФИ 17-04-01250 А «Исследование механизмов эволюции и генетического контроля транспозиции эррантиввирусов у *Drosophila melanogaster*» (руководитель д.б.н., профессор, профессор кафедры генетики биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова А.И.Ким), и 22-24-00305 «Молекулярная доместикация ретровирусного гена *gag* и его роль в функционировании генной сети стрессового ответа у *Drosophila*» (руководитель д.б.н., доцент, профессор кафедры генетики биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова Нефедова Л.Н.).

Основные идеи и положения работы были представлены на российских и международных конференциях «Дрозофила 2020», Гатчина, 2020; «Актуальные проблемы биологии развития», Москва, 2021; «Ломоносов-2022», Москва, 2022; «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology», Novosibirsk, 2022; «Дрозофила 2023», Гатчина, 2023 и изложены в 5 научных работах автора общим объёмом 3,75 п.л. в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации результатов диссертаций:

Кукушкина И.В., Махновский П.А., Нефедова Л.Н., **Миляева П.А.**, Кузьмин И.В., Лавренов А.Р., Ким А.И. Анализ транскриптома линий *Drosophila melanogaster* с нарушением контроля транспозиции ретротранспозона *gypsy* // *Генетика* 2020, Т. 56, № 5., С. 550–560. DOI: 10.31857/S0016675820050082.

Миляева П.А., Нефедова Л.Н. Устойчивость к борной кислоте у *Drosophila melanogaster* зависит от уровня экспрессии гена *Cyp9b2* // *Генетика* 2022, Т. 58, № 4, С. 463–469. DOI: 10.31857/s0016675822040099.

Миляева П.А., Лавренов А.Р., Кузьмин И.В. Ким А.И., Нефедова Л.Н. Регуляция однопочечных и двухпочечных кластеров рiРНК в герминальных и соматических тканях *Drosophila melanogaster* зависит от гена *rhino* // *Генетика* 2023, Т. 59, № 12, С. 1372–1381. DOI: 10.31857/S0016675823120056.

Milyaeva P.A., Kukushkina I.V., Kim A.I., Nefedova L.N. Stress induced activation of LTR retrotransposons in the *Drosophila melanogaster* genome // *Life* 2023, Vol. 13, №12, P. 2272–2272. DOI: 10.3390/life13122272.

Миляева П.А., Кукушкина И.В., Лавренов А.Р., Кузьмин И.В., Ким А.И., Нефедова Л.Н. Регуляция экспрессии ретротранспозонов в соматических тканях *Drosophila melanogaster* // *Молекулярная биология* 2024, Т. 58, №1 С. 9-9.

из которых 5 опубликованы в журнале, индексируемом в базах данных Web of Science или Scopus.

Выполненная научно-квалификационная работа соответствует направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки», направленности 1.5.7 – «генетика»

Диссертация «Регуляция экспрессии мобильных элементов в соматических и генеративных тканях у *Drosophila melanogaster*» Миляевой Полины Андреевны соответствует требованиям, установленным Федеральным законом от 23.08.1996 № 127-ФЗ «О науке и государственной научно-технической политике» и Положением о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова к диссертационным исследованиям, на основании вышеуказанных пунктов.

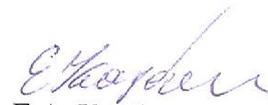
Экспертное заключение о возможности открытого опубликования рукописи диссертации на соискание ученой степени кандидата наук и автореферата диссертации прилагается.

Представленная диссертация рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата наук по научной специальности 1.5.7. Генетика в диссертационном совете Д24.1.088.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук по специальности генетика (биологические науки).

Заключение принято на заседании кафедры генетики биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова». Присутствовало на заседании 22 человека. Из них докторов наук: 4. Результаты голосования: «за» - 22 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел.

Протокол №1/24 от 10 января 2024 г.

Зам. зав. кафедрой генетики биологического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова, к.б.н.


Е.А. Карбышева

