

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.191.01 (Д 005.008.01),  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ  
ЦЕНТР МОРСКОЙ БИОЛОГИИ им. А.В. ЖИРМУНСКОГО»  
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА  
НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 09 июня 2023 г. № 6

О присуждении Завальной, Евгении Генриховне, гражданке России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Экспрессия гена *piwi* в процессе восстановления клеточного состава целомической жидкости голотурии *Eupentacta fraudatrix*» по специальности 1.5.22. Клеточная биология принята к защите 4 апреля 2023 г. (протокол заседания № 2) диссертационным советом 24.1.191.01 (Д 005.008.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17, приказ Минобрнауки России 105/нк от 11.04.2012 г.; шифр диссертационного совета изменен на 24.1.191.01 приказом Минобрнауки РФ № 561/нк от 03 июня 2021 г.

Соискатель Завальная Евгения Генриховна, «12» января 1994 г. рождения. В 2017 г. соискатель окончила магистратуру при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» по направлению 06.04.01. Биология (профиль «Клеточная биология и генетика»). В 2021 году соискатель окончила очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Национальный научный центр морской биологии

им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, работает в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук. Диссертация выполнена в лаборатории сравнительной цитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук.

**Научный руководитель** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Елисейкина Марина Геннадьевна, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сравнительной цитологии.

**Официальные оппоненты:**

**Аминин Дмитрий Львович**, доктор биологических наук, чл.-корр. РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, зав. лабораторией биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ

**Андреева Александра Юрьевна**, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», руководитель лаборатории экологической иммунологии гидробионтов, ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, в своем положительном заключении, подписанным Петуховой Ольгой Александровной, кандидатом биологических наук, старшим научным



сотрудником Центра коллективного пользования «Коллекция культур клеток позвоночных» и Подгорной Ольгой Игоревной, доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником лаборатории некодирующей ДНК, указала, что по содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню и практической ценности полученных результатов диссертационная работа соответствует основным квалификационным критериям (пункты 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., в редакции от 11 сентября 2021 г.), а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

**Соискатель имеет 5** опубликованных работ по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **2** работы. В **1** из работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, Завальная Е.Г. является первым автором, что свидетельствует о большом личном вкладе соискателя. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Работы посвящены исследованию экспрессии гена *piwi* в тканях голотурии *E. fraudatrix* при восстановлении клеточного состава целомической жидкости и регенерации. В статьях и материалах международных и всероссийских научных конференций опубликованы основные результаты исследований.

**Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

1. **Завальная Е.Г., Шамшурина Е.В., Елисейкина М.Г.** Иммуноцитохимическая идентификация PIWI-позитивных клеток в ходе восстановления популяции целомоцитов после эвисцерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix* (Djakonov et Baranova, 1958) (Holothuroidea: Dendrochirota) // Биология моря. 2020. Т. 46, № 2. С. 117–125.

2. Dolmatov I.Yu., Kalacheva N.V., Tkacheva E.S., Shulga A.P., **Zavalnaya E.G.**, Shamshurina E.V., Girich A.S., Boyko A.V., Eliseikina M.G. Expression of *Piwi*, *MMP*, *TIMP*, and *Sox* during gut regeneration in holothurian *Eupentacta*

*fraudatrix* (Holothuroidea, Dendrochirotida) // Genes. 2021. Vol. 12, № 8. Article No. 1292. Doi: 10.3390/genes12081292.

**На диссертацию и автореферат поступило 4 положительных отзыва.**

В отзыве, подписанном главным научным сотрудником лаборатории проблем регенерации ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук д.б.н. Э.Н. Григорян, отмечаются незначительные недочеты, такие как малое количество информации по гену *seali* и отсутствие информации о способе индукции эвисцерации у голотурии *E. fraudatrix*. Доцент кафедры клеточной биологии и генетики Института Мирового океана ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» к.б.н. Н.П. Токмакова заметила, что следовало бы сделать итоговый рисунок-схему, на котором показать локализацию ниши стволовых клеток и гистогенетические отношения клеток. Отзывы без замечаний подписали зав. лабораторией сравнительной физиологии развития ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук д.б.н. Е.Е. Воронежская и старший научный сотрудник лаборатории генетики Санкт-Петербургского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («ГосНИОРХ» им. Л.С. Берга) к.б.н. Е.А. Кондакова.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации**

обосновывается тем, что официальные оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами, имеющими значительное число публикаций в области клеточной биологии, а ведущая организация – научным учреждением, в число основных направлений фундаментальных научных исследований которого входит изучение механизмов пролиферации и дифференцировки клеток, а также исследование стволовых клеток. Квалифицированность ведущей организации подтверждается большим числом публикаций по тематике диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований в половых и соматических тканях голотурии *Eupentacta fraudatrix* (Echinodermata) определена экспрессия гена *piwi* и его



паралога гена *seali*. Установлено наличие у *E. fraudatrix* продукта активности гена *piwi* – регуляторного белка Piwi, основной функцией которого является сохранение стабильности генома стволовых клеток. На основании данных транскриптомного анализа определена предсказанная аминокислотная последовательность белка Piwi голотурии *E. fraudatrix*, установлено наличие консервативных для белков подсемейства Piwi доменов и показана высокая степень идентичности с последовательностями этого белка у представителей других систематических групп животных. В составе целомической жидкости *E. fraudatrix* выявлены 3 основные группы целомоцитов: низкодифференцированные ювенильные (2–6 мкм в диаметре), среднедифференцированные (6–10 мкм) и высокодифференцированные (10–20 мкм) клетки и исследована динамика их численности в процессе регенерации внутренних органов голотурии после эвисцерации. В популяции ювенильных целомоцитов обнаружена субпопуляция клеток, содержащих в цитоплазме белок Piwi, и показано, что их доля резко возрастает в первые часы после эвисцерации и затем снижается до значений, характерных для интактных животных. Установлено, что Piwi-позитивные клетки локализуются также в рыхлых и плотных слоях соединительной ткани стенки тела голотурии и показан процесс миграции этих клеток в целомическую полость на ранних этапах регенерации. Выявлена разнонаправленная динамика экспрессии гена *piwi* в целомоцитах и в тканях стенки тела голотурии в процессе регенерации: активность гена возрастала в течение 1 ч после эвисцерации в целомоцитах и снижалась в стенке тела. Активность гена *seali* обнаружена на более поздних стадиях регенерации, после восстановления клеточного состава целомической жидкости. Совокупность полученных результатов указывает на то, что содержащие белок Piwi клетки стенки тела голотурии *E. fraudatrix* являются источником основных линий дифференцировки иммунокомпетентных клеток целомической жидкости при регенерации.

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что определён клеточный источник возобновления клеток целомической жидкости при регенерации внутренних органов голотурии. Результаты работы вносят

существенный вклад в понимание клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе процесса восстановления иммунокомпетентных клеток иглокожих, и способствуют развитию сравнительно-эволюционных исследований роли стволовых клеток в процессах регенерации клеток крови.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** состоит в том, что выявленный механизм восстановления клеток целомической жидкости голотурии за счет поддержания пула соматических недифференцированных клеток в стенке тела с участием гена *riwi* может служить основой для биотехнологических и биомедицинских исследований в области стволовых клеток и регенеративной медицины.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила**, что в работе использован комплекс современных методов: цитологические (проточная цитометрия и сортировка клеток, иммуноцитохимия, светооптическая, электронная и флуоресцентная микроскопия), биохимические (электрофорез белков в полиакриламидном геле, Вестерн-блоттинг, МАЛДИ-масс-спектрометрия) и молекулярно-генетические (полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени и цифровая капельная полимеразная ПЦР), а также филогенетический анализ, выполненный на основе результатов поиска нуклеотидных последовательностей в транскриптоме голотурии *E. fraudatrix*, что способствовало достижению поставленных цели и задач. Анализ большого объема современных и классических научных работ, подтверждение полученных результатов различными методами и корректный статистический анализ данных обеспечили достоверность результатов и сформулированных на их основе положений и выводов.

**Личный вклад соискателя** состоит в планировании, реализации и проведении всех этапов работы либо в непосредственном участии в них (изучение литературных источников, анализ нуклеотидных последовательностей *riwi*, отбор биологического материала, проведение электрофореза белков, Вестерн-блоттинга и подготовка образцов для МАЛДИ масс-спектрометрии, отбор клеток для подсчета методом проточной цитометрии и исследования методами иммуноцитохимии, выделение РНК и выполнение



работ по ПЦР в реальном времени и капельной цифровой ПЦР), а также в подготовке публикаций по теме диссертации и апробации результатов исследования.

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания относительно недостаточно полного описания в диссертационной работе некоторых методов, отсутствия выводов по поводу роли гена *seali* в процессах регенерации голотурии и об экспрессии гена *piwi* в половых клетках, а также замечания редакционного характера по поводу использования некоторых терминов и информативности иллюстраций. Принципиальных замечаний по существу работы высказано не было.

Соискатель Завальная Е.Г. ответила на все вопросы, привела аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласилась с некоторыми замечаниями.

На заседании 9 июня 2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Завальной Е.Г. ученую степень кандидата биологических наук за вклад в решение задачи, имеющей значение для клеточной биологии – изучение клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе процесса восстановления иммунокомпетентных клеток крови при регенерации органов и тканей животных.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **13** человек, из них **3** доктора наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, участвовавших в заседании, из **19** человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту **0** человек, проголосовали: за **13**, против **0**, недействительных бюллетеней **0**.

Председатель диссертационного  
совета  
чл.-корр. РАН

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук

  
Юшин  
Владимир  
Владимирович  
Ващенко  
Марина  
Александровна

9 июня 2023 г.