

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.001.01, созданного на  
базе ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В  
СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА,  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 21.06.2022 г. № 13

О присуждении Грищенко Ирине Владимировне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Исследование нестабильности экзогенных повторов (CGG)<sub>n</sub> в клеточных моделях» по специальности 1.5.3 – молекулярная биология принята к защите 14.03.2022 г. (протокол заседания № 5) диссертационным советом 64.1.001.01, созданным на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора), 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, приказ от 12.04.2018 г. № 403/нк, изменения от 08.02.2021 г. № 111/нк.

Соискатель – Грищенко Ирина Владимировна, 1995 г. рождения, в 2018 г. окончила ФГАОУ ВО «Новосибирский государственный университет» по специальности «Биология» и получила степень магистра.

С 2018 г. по настоящее время соискатель обучается в аспирантуре ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, работает младшим научным сотрудником в отделе геномных исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Диссертация выполнена в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Научный руководитель – Юдкин Дмитрий Владимирович, кандидат биологических наук, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, отдел геномных исследований, заведующий отделом.

Официальные оппоненты:

Романенко Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук» (ИМКБ СО РАН), лаборатория цитогенетики животных, старший научный сотрудник;

Егорова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук» (ИМБ РАН), лаборатория механизмов контроля трансляции, старший научный сотрудник.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» (ИХБФМ СО РАН), г. Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанном Ендуткиным Антоном Валентиновичем, кандидатом химических наук, научным сотрудником лаборатории геномной и белковой инженерии, и утвержденном Пышным Дмитрием Владимировичем, член-корреспондентом РАН, профессором, доктором химических наук, директором ИХБФМ СО РАН, указала, что диссертация Грищенко Ирины Владимировны является научно-квалификационной работой, в которой рассмотрены особенности нестабильности CGG-повтора в ответ на активацию транскрипции в генно-инженерных клеточных моделях, а также особенности этих повторов в геноме, в частности образования ими G-квадруплексов и локализация подобных последовательностей в различных геномных локусах. Результаты работы представляют собой важный этап в понимании причин нестабильности CGG-повтора в геноме человека. Проведенное исследование актуально, а полученные экспериментальные данные представляют фундаментальную ценность для молекулярной биологии и смежных областей и перспективы для практического использования. Достоверность полученных экспериментальных данных не вызывает сомнений. Работа представляет собой законченное, самостоятельное исследование, ее тема и содержание полностью согласуется с шифром специальности 1.5.3 – молекулярная биология, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых



степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 27 научных работ, по теме диссертации опубликовано 4 работы, из которых все входят в перечень ВАК и международные научные базы, наиболее значимые работы:

1. Грищенко, И. В.; Тулупов, А. А.; Рымарева, Ю. М.; Петровский, Е. Д.; Савелов, А. А.; Коростышевская, А. М.; Максимова, Ю. В.; Шорина, А. Р.; Шитик, Е. М.; Юдкин, Д. В. Трансгенная клеточная линия с индуцируемой транскрипцией для исследования механизмов экспансии (CGG)<sub>n</sub> повторов // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2021. – Т. 25. – № 1. – С. 117–124. doi: 10.18699/VJ21.014; (Scopus, WoS, РИНЦ);
2. Grishchenko I. V., Purvinsh Y. V., Yudkin D. V. Mystery of Expansion: DNA Metabolism and Unstable Repeats // Mechanisms of Genome Protection and Repair. Part of the Advances in Experimental Medicine and Biology book series / Ed by. D.O. Zharkov. Cham: Springer International Publishing, – 2020. P. 101–124. doi: 10.1007/978-3-030-41283-8\_7; (Scopus, WoS, РИНЦ).

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от д-ра биол. наук, проф., акад. РАН Жимулева И.Ф. (ИМКБ СО РАН, научный руководитель) отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук, проф. Дубовского И.М. (ФГБОУ ВО НГАУ, заведующий лабораторией биологической защиты растений и биотехнологий) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук Трифонова В.А. (ФГБУН ИМКБ СО РАН, зам. директора по научной работе) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук, доц. Пустыльняка В.О. (ФГАОУ ВО НГУ, зам. директора Института медицины и психологии В. Зельмана НГУ по научной работе, зав. лабораторией молекулярной патологии, доцент кафедры фундаментальной медицины) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук, доц. Луканиной С.В. (ФГБОУ ВО НГПУ, начальник отдела организации научно-исследовательской деятельности) – отзыв полностью

положительный, от д-ра биол. наук Чурикова Н.А. (ФГБУН ИМБ РАН, главный научный сотрудник) – отзыв полностью положительный.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в области молекулярной биологии, большим количеством публикаций в этой области исследований, высоким профессионализмом и согласием на оппонирование.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработан экспериментальный подход для визуализации вторичных структур G-квадруплексов в гене *FMR1* в клеточных линиях человека;

предложена оригинальная научная гипотеза, рассматривающая сокращение CGG-повтора в ответ на прохождение транскрипционного комплекса и последующей репарации, ассоциированной с транскрипцией;

доказана эффективность использования модельных клеточных линий на основе генно-инженерных конструкций, несущих тракт повторов, моделирующий микросателлитную последовательность в гене *FMR1* для изучения механизмов нестабильности триплетных повторов, ассоциированных с транскрипцией.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны гипотеза о влиянии транскрипции и репарации ассоциированной с транскрипцией на сокращение длины тракта повторов (CGG)<sub>n</sub>, а также подтверждено формирование альтернативных вторичных структур G-квадруплексов в локусе *FRAXA* для премутации и полной мутации гена *FMR1*, что вносит вклад в расширение представлений о природе нестабильности CGG-повторов;

применительно к проблематике диссертации результативно использован, комплекс генно-инженерных и биотехнологических подходов, позволивший впервые получить клеточные модели для анализа влияния транскрипции на нестабильность тринуклеотидного повтора CGG;

изложены факторы и условия сокращения CGG-повтора премутантной длины в моделях на основе эукариотических клеточных линий;



раскрыты причины соматического мозаицизма — явления, наблюдаемого у пациентов с синдромом ломкой X-хромосомы и заболеваниями, ассоциированными с ломкой X-хромосомой, при котором в одном типе ткани наблюдается несколько аллелей гена *FMR1* от нормы до полной мутации;

изучены причинно-следственные связи формирования нестабильности CGG-повтора в геноме на основе данных о размере этого типа повтора в нескольких клеточных линиях и различных геномных локусах;

проведена модернизация методологии дизайна генно-инженерных конструкций, позволяющих отслеживать прохождение транскрипционного комплекса через повторенную последовательность за счет репортерного белка.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

определены оптимальные условия культивирования клеток прокариот, несущих плазмидные конструкции с протяженным CGG-повтором, для обеспечения стабильности этого фрагмента;

созданы трансгенные клеточные модели для изучения нестабильности тринуклеотидных повторов, которые могут быть использованы в широком спектре исследований в данной области;

представлены предложения по способу изучения механизмов нестабильности микросателлитных повторов в модельных системах.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании;

теория разработки клеточных моделей для анализа нестабильности CGG-повторов основана на анализе научных публикаций и грамотном планировании экспериментов;

идея работы базируется на актуальности разработки модели экспансии повторенных последовательностей из-за сохранения высокого риска генетических заболеваний на основе этой мутации и отсутствия таргетной терапии;

использованы данные 243 научных работ для составления литературного обзора и сопоставления с ними полученных автором результатов;

установлена достоверность авторских результатов на основании публикаций в рецензируемых изданиях и докладов на конференциях, а также качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по тематике исследования;

использованы современные молекулярно-биологические, генно-инженерные и статистические методы исследований.

Личный вклад соискателя состоит:

в непосредственном участии в планировании стратегии исследования, проведения всех необходимых экспериментов и анализе полученных результатов. При непосредственном участии автора проводилась подготовка всех публикаций по теме диссертационного исследования.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Грищенко И.В. ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 21 июня 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Грищенко И.В. ученую степень кандидата биологических наук **за решение научной задачи** поиску особенностей вторичной структуры и размера CGG-повторов в геноме, а также анализу нестабильности этого типа повтора в модельных клеточных линиях при активации транскрипции.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, биологические науки, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 19, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Максютов Ринат Амирович

Ученый секретарь

диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Непомнящих Татьяна Сергеевна

21.06.2022 г.