

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 29 ноября 2022 г. № 8

О присуждении Бойко Алексею Вячеславовичу, гражданину России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Поиск транскрипционных факторов, регулирующих трансдифференцировку клеток при регенерации кишки у голотурии *Eupentacta fraudatrix*» по специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология принята к защите 22 августа 2022 г. (протокол заседания № 5) 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 Бойко Алексей Вячеславович, «16» декабря 1993 г. рождения. В 2017 г. соискатель окончил 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 окончил 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** – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН Долматов Игорь Юрьевич, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, главный научный сотрудник.

**Официальные оппоненты:**

Ельчанинов Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, зав. лабораторией регенерационной медицины

Костюченко Роман Петрович, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», и.о. зав. кафедрой эмбриологии

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном заключении, подписанным Григорян Элеонорой Норайровной, доктором биологических наук, главным научным сотрудником лаборатории проблем регенерации, указала, что по

содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню и практической ценности полученных результатов диссертационная работа соответствует основным квалификационным требованиям (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 1.5.23. Биология развития, эмбриология.

**Соискатель имеет 11** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано **8** работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **3** работы. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Работы посвящены анализу транскриптомов трех видов голотурий, а также поиску ключевых генов, участвующих в различных морфогенезах, в том числе в процессе регенерации кишки у голотурии *Eupentacta fraudatrix*. В 2 работах, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, Бойко А.В. является первым автором, что свидетельствует о большом личном вкладе соискателя. В статьях и материалах международных и всероссийских научных конференций опубликованы основные результаты исследований.

**Наиболее значимые работы по теме диссертации:**

1. Dolmatov I.Yu., Afanasyev S.V., **Boyko A.V.** Molecular mechanisms of fission in echinoderms: transcriptome analysis // PLOS ONE. 2018. Vol. 13, № 4. Article no. e0195836. doi: 10.1371/journal.pone.0195836.

2. **Boyko A.V.**, Girich A.S., Eliseikina M.G., Maslennikov S.I., Dolmatov I.Y. Reference assembly and gene expression analysis of *Apostichopus japonicus* larval development // Scientific Reports. 2019. Vol. 9, № 1. Article no. 1131. doi: 10.1038/s41598-018-37755-5.

3. **Boyko A.V.**, Girich A.S., Tkacheva E.S., Dolmatov I.Y. The *Eupentacta fraudatrix* transcriptome provides insights into regulation of cell

transdifferentiation // Scientific Reports. 2020. Vol. 10, № 1. Article no. 1522. doi: 10.1038/s41598-020-58470-0.

**На диссертацию и автореферат поступило 5 положительных отзывов.**

В отзыве, подписанном ассистентом каф. эмбриологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» к.б.н. И.Е. Борисенко, указано на ошибку в названии реактива для синтеза РНК-зондов (стр. 9) и на то, что вывод об участии транскрипта *Ef-snai2* в трансдифференцировке не соответствует результатам гибридизации *in situ*. Ведущий научный сотрудник лаб. нелинейных динамических систем ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН к.ф.-м.н. М.Ю. Улейский высказал вопросы и замечания по поводу отсутствия описания модификации, внесенной в код одной из программ, не совсем понятного описания алгоритма разработанной автором программы Resonciler и отсутствия данных по чувствительности и специфичности этой же программы, отсутствия списка аббревиатур, а также высказал сомнение в правильности порядка фильтрации генов при поиске ключевых транскрипционных факторов. Зав. сектором геномных механизмов онтогенеза ФГБУН Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН к.б.н. В.С. Фишман высказал несколько замечаний по поводу биоинформационного анализа. 1) Непонятно, почему в алгоритме HomoloCAP приводится именно 3 итерации и чем обусловлен выбор длины общего участка в 120 и 100 нуклеотидов. 2) Отсутствуют метрики качества, использованные при сравнении сборок транскриптомов. 3) Отсутствуют данные о точности поиска ортологов разработанным автором методом. 4) Неоднозначность интерпретации некоторых терминов. Зав. лабораторией генетики развития ФГБУН Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН к.б.н. Н.Р. Баттулин задал вопрос об использовании поправки на множественное сравнение при поиске дифференциально экспрессирующихся генов и предложил способ проверки предположения соискателя о причинах расхождения данных по экспрессии методами секвенирования транскриптома (RNA-seq) и капельной цифровой полимеразной цепной реакции (ddPCR).

Отзыв без замечаний подписал кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории эволюционной геномики ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук А.Д. Манахов.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обосновывается тем, что официальные оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами, имеющими значительное число публикаций в области эмбриологии и регенерации животных и человека, а ведущая организация – научным учреждением, одним из основных направлений фундаментальных научных исследований которого является изучение молекулярных и генетических механизмов регуляции ранних этапов развития и клеточной дифференцировки. Квалифицированность ведущей организации подтверждается большим числом публикаций по тематике диссертации.

**Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований** получены новые данные о молекулярных механизмах трансдифференцировки клеток, происходящей во время регенерации кишки у голотурии *Eupentacta fraudatrix* (Echinodermata). Разработаны подходы к анализу транскриптомов немодельных видов животных в отсутствие для них полной расшифровки генома (алгоритм для улучшения качества сборки данных транскриптома на основе использования белок-кодирующих частей транскриптов, модифицированный метод быстрого поиска ортологов, программа для автоматического подбора лучших комбинаций олигонуклеотидов для мультиплексной количественной полимеразной цепной реакции). Проведен анализ транскриптома *E. fraudatrix* и выявлены 11 генов транскрипционных факторов, экспрессия которых увеличивается в период активной трансдифференцировки клеток целомического эпителия в энтероциты. Охарактеризованы локализация транскриптов этих генов в зачатке кишки и уровень их экспрессии на разных стадиях регенерации и показана низкая внутривидовая вариабельность этой экспрессии. Совокупность полученных результатов указывает на то, что гены *Ef-klf1/2/4*, *Ef-prdm9*, *Ef-snai2* и *Ef-id* являются наиболее вероятными претендентами на роль ключевых

регуляторов трансформации клеток целомического эпителия в энтероциты при регенерации кишки у голотурии *E. fraudatrix*.

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что результаты работы вносят существенный вклад в понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе реорганизации работы генома при смене типа дифференцировки клеток в процессе регенерации органов животных. Совокупность оригинальных методических подходов и полученных данных создаёт базу для развития сравнительно-эволюционных исследований геномной регуляции процессов регенерации органов и тканей у животных.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** состоит в том, что разработанные методы анализа транскриптома могут быть использованы для анализа генов и их экспрессии у других немодельных видов, полный геном которых не расшифрован. Выявленные молекулярные механизмы трансдифференцировки клеток открывают перспективы для биотехнологических и биомедицинских исследований в области стволовых клеток.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила**, что в работе использован комплекс современных экспериментальных подходов, включающих применение морфологических, молекулярно-генетических и биоинформационных методов исследования. Применение как общепринятых, так и разработанных соискателем подходов к анализу транскриптомов голотурий способствовало достижению поставленных цели и задач. Фактические материалы, представленные в диссертации, соответствуют первичной документации. Анализ большого объема современных и основополагающих классических научных работ, подтверждение полученных результатов различными методами и корректный анализ данных с использованием статистических тестов 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 (анализ литературных источников, разработка и апробация алгоритмов анализа

транскриптома, анализ данных секвенирования, подготовка материала и выполнение работ по капельной цифровой ПЦР, подготовка материала и участие в выполнении гибридизации *in situ*), 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 разработанных соискателем методов, а также замечания редакционного характера по поводу использования некоторых терминов и информативности иллюстраций. Принципиальных замечаний по существу работы высказано не было.

Соискатель Бойко А.В. ответил на все вопросы, привел аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласился с некоторыми замечаниями.

На заседании 29 ноября 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Бойко А.В. ученую степень кандидата биологических наук за вклад в решение задачи, имеющей значение для биологии развития и эмбриологии – изучение молекулярно-генетических механизмов дифференцировки клеток в онтогенезе и при регенерации органов и тканей животных.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **15** человек, из них **5** докторов наук по специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология, участвовавших в заседании, из **19** человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту **0** человек, проголосовали: за **14**, против **0**, недействительных бюллетеней **1**.

Председатель диссертационного  
совета  
чл.-корр. РАН

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат биологических наук

29 ноября 2022 г.



Юшин  
Владимир  
Владимирович

Ващенко  
Марина  
Александровна