

Диссертант: Жиронкина Оксана Андреевна

Тема диссертационной работы: «Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе»

Специальность: 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Отрасль науки: биологические науки

ПРОТОКОЛ № 1

Заседания Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций
Д 501.001.52 на базе МГУ имени М.В. Ломоносова от 16 февраля 2016 года

Председатель совета - д.б.н., профессор В.А. Голиченков

Учёный секретарь - к.б.н. Е.Н. Калистратова

ПОВЕСТКА ДНЯ: Защита диссертации **Жиронкиной Оксаны Андреевны.**

ПРИСУТСТВОВАЛИ

д.б.н. Голиченков Владимир Александрович,
д.б.н. Онищенко Галина Евгеньевна,
к.б.н. Калистратова Елена Николаевна,
д.б.н. Александрова Мария Анатольевна,
д.б.н. Белоусов Лев Владимирович,
д.б.н. Бурлаков Александр Борисович,
д.б.н. Воротеляк Екатерина Андреевна,
д.б.н. Доронин Юрий Константинович,
д.б.н. Зацепина Ольга Владимировна,
д.б.н. Исаев Николай Константинович,
д.б.н. Ким Александр Иннокентьевич,
д.б.н. Киреев Игорь Игоревич,
д.б.н. Мелехова Ольга Петровна,
д.б.н. Семенова Мария Львовна,
д.б.н. Смирнова Елена Александровна.

В состав счётной комиссии были избраны:

д.б.н. Доронин Ю.К. (председатель),
д.б.н. Бурлаков А.Б.,
д.б.н. Смирнова Е.А.

СЛУШАЛИ:

Защиту диссертации **Жиронкиной Оксаны Андреевны** на тему:
«Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе» на
соискание учёной степени кандидата биологических наук по
специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология,
гистология.

Научный руководитель: д.б.н. **Киреев И.И.**

Официальные оппоненты: д.б.н., **Глазков М.В.**, доцент, руководитель Группы структурно-функциональной организации эукариотических хромосом Лаборатории регуляции морфогенеза ФГБУ науки Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова Российской академии наук;
д. б. н. **Попенко В.И.**, в. н. с. Лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ФГБУ науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии гена Российской академии наук.

ПОСТАНОВИЛИ: На основании результатов тайного голосования членов совета
(за – 15, против – 0, нед. бюл. – 0) считать, что диссертация
соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям
на соискание учёной степени кандидата наук и присудить
Жиронкиной Оксане Андреевне учёную степень кандидата
биологических наук.

Открытым голосованием принято заключение диссертационного
совета.

Председатель совета, д.б.н., профессор

/В.А. Голиченков/

Учёный секретарь к.б.н.

/Е.Н. Калистратова/



ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 501.001.52
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.В.
ЛОМОНОСОВА» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 16. 02. 2016 № 1

О присуждении Жиронкиной Оксана Андреевне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук. Диссертация «Изучение механизмов роста ядерной ламины в интерфазе» по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология принята к защите 01.12.2015 года, протокол № 18 А, диссертационным советом Д 501.001.52 на базе Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12, Биологический факультет МГУ), утвержденного приказом Министерства образования и науки РФ № 391/нк от 29.07.2013 г.

Соискатель Жиронкина Оксана Андреевна 1989 года рождения. В 2011 году окончила биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, в 2014 году – очную аспирантуру биологического факультета Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

Работает в должности младшего научного сотрудника в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова.

Диссертация выполнена в отделе электронной микроскопии Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова.

Научный руководитель – доктор биологических наук Киреев Игорь Игоревич, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, отдел электронной микроскопии, заведующий отделом.

Официальные оппоненты:

Глазков Михаил Васильевич, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова Российской академии наук, лаборатория регуляции морфогенеза, руководитель Группы структурно-функциональной организации эукариотических хромосом.

Попенко Владимир Иванович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, лаборатория клеточных основ развития злокачественных заболеваний, ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, в своем положительном заключении, подписанном Величко Артемом Константиновичем, кандидатом биологических наук, научным сотрудником лаборатории структурно-функциональной организации хромосом, указала, что «Актуальность и новизна полученных данных, высокий методический уровень работы, ее теоретическая и практическая значимость, позволяют сделать вывод о том, что данная диссертационная работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор Жиронкина Оксана Андреевна заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология».

Соискатель имеет 30 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 9 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 2 статьи, из них одна – в ведущем российском, одна – в высокорейтинговом зарубежном журнале. Результаты диссертации были доложены на национальных и международных конференциях. Все результаты исследований получены лично соискателем, а его

авторский вклад в публикациях является значительным. Публикации, отражающие основное содержание диссертации:

- 1) Zhironkina OA, Brattseva AL, Cherepaninets VD, Strelkova OS, Belmont AS, Kireev II. /Overcoming Steric Hindrances during Replication of Peripheral Heterochromatin. // Cell tissue biol. - 2015 - 9(2) - p. 110–118.
- 2) Gavrilov AA, Gushchanskaya ES, Strelkova O, Zhironkina O, Kireev II, Iarovaia OV, Razin SV. / Disclosure of a structural milieu for the proximity ligation reveals the elusive nature of an active chromatin hub. // Nucleic Acids Res. - 2013 - 41(6) -p. 3563-75.

На автореферат диссертации поступили отзывы:

- д. б. н., Буракова Антона Владимировича, старшего научного сотрудника Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ имени М. В. Ломоносова,
- к. б. н. Кисуриной-Евгеньевой Ольги Петровны, доцента кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова.

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

- д. б. н. Узбекова Рустема Эдуардовича, ведущего научного инженера лаборатории Клеточной биологии и электронной микроскопии департамента Микроскопии Медицинского факультета Университета Франсуа Рабле (Тур, Франция). Отзыв положительный, принципиальных замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются специалистами в области исследований структуры и функционирования клеточного ядра и имеют публикации по исследованиям в данной области, а в Институте биологии гена Российской академии наук на высоком уровне проводятся исследования со сходным профилем в области клеточной биологии, цитологии и гистологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная концепция, согласно которой рост и функционирование ламины определяется тесной структурной и функциональной связью с периферическим гетерохроматином;

предложена оригинальная научная гипотеза о независимых механизмах увеличения площади ламиновых сетей, образованных ламинами А и В типов, на разных стадиях клеточного цикла и регуляции встраивания ламинов в состав полимеризованной ядерной ламины;

доказана высокая пластичность ламины и ранее неизвестная ее способность значительно менять свою конфигурацию, сочетающиеся с высокой стабильностью как ее микроархитектуры, так и степенью ее полимеризации;

введен новый метод маркирования реплицирующегося хроматина на электронномикроскопическом уровне с сохранением нативной структуры, разработана процедура высокоэффективного автоматизированного определения площади проекции ядра с учетом стадии клеточного цикла, разработан плагин для получения информации об интенсивностях флуоресценции ламины и репликативной метки в экваториальном и тангенциальном оптических срезах ядра.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана гипотеза о различающихся механизмах встраивания ламинов А и В типов, обеспечивающих равномерный рост ядерной оболочки на протяжении интерфазы с сохранением структуры и степени полимеризации микродоменов ламины, что вносит существенный вклад в расширение существующих представлений о функционировании ядерной оболочки и периферического гетерохроматина.

Применительно к проблематике диссертации эффективно **использован** комплекс как классических цитологических методов, включающих культивирование эукариотических клеток, их синхронизацию, репликативное мечение, фиксацию, иммуноцитохимическое окрашивание, липосомную трансфекцию клеток и получение стабильных линий, метод осмотического шока, так и уникальных современных технологий микроскопии и пробоподготовки (флуоресцентная, конфокальная микроскопия и микроскопия с суперразрешением, прижизненная цейтраферная микроскопия, иммуноэлектронная микроскопия). Работа на культурах эукариотических клеток сопровождалась получением генетических конструкций и биохимическим анализом клеточного материала. Все ключевые данные подвергались тщательному статистическому анализу;

изложены экспериментальные доказательства связи скорости встраивания ламина В со стадией клеточного цикла и отсутствия таковой для ламина А, на фоне сохранения структурных особенностей ламина в непосредственной близости от репликативных сайтов;

раскрыты существенные проявления теории: выявлены неизвестные ранее проблемы касательно конкретных молекулярных механизмов регуляции встраивания ламинов А и В типов в состав ядерной оболочки, обеспечивающих весь комплекс необходимых для созревания ламинов посттрансляционных модификаций, способствующих поддержанию прочности и пластичности ядерной оболочки при меняющейся в клеточном цикле функциональной нагрузке;

изучены структурно-морфологические аспекты связи низкой молекулярной подвижности ламинов, высокой пластичности ламина в макромасштабе и ее микродоменной структуры на разных стадиях клеточного цикла;

проведена модернизация существующих методов пробоподготовки для иммуноэлектронной микроскопии прикрепленных к субстрату клеток, а также способов количественного анализа данных, полученных методами широкопольной флуоресцентной микроскопии и микроскопии с суперразрешением.

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

разработана новая методика количественного анализа степени неоднородности структуры вдоль заданного профиля; разработан новый автоматизированный метод определения степени прогрессии клетки по клеточному циклу на основании данных широкопольной флуоресцентной микроскопии;

определены перспективы практического использования полученных результатов в дальнейшем изучении структуры и функционирования животных клеток, в частности при поиске новых методов регуляции генной активности путем глобального переключения активности генов и при разработке терапевтических подходов лечения ламинопатий, в противоопухолевой терапии и репрограммировании клеток;

создана система практических рекомендаций для исследования морфофункциональных особенностей ламины и ядерной оболочки;

представлены рекомендации по методике исследования нативной структуры высших уровней организации хроматина с высоким разрешением, а также предложения по дальнейшему совершенствованию разработанных в работе методических подходов для прижизненного исследования субклеточных структур со сверхвысоким разрешением методами локализационной микроскопии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

воспроизводимость результатов исследования: экспериментальная работа выполнена на сертифицированном оборудовании, откалиброванном в соответствие со стандартами; работа выполнена на высоком методическом и технологическом уровне с применением современных методов клеточной биологии и биохимии на достаточном по объёму материале;

теория построена на проверяемых данных автора и согласуется с известными опубликованными экспериментальными данными в соответствующей отрасли научного знания;

идея базируется на анализе экспериментальных работ отечественных и зарубежных исследователей, изучающих строение и функционирование ядерной оболочки, ламинов, связанного с ламинной периферического гетерохроматина;

использованы оригинальные данные автора, сопоставимые с данными, полученными ранее другими авторами по исследуемой тематике;

установлено качественное совпадение результатов работы автора с данными, представленными в работах, посвященных исследованию микродоменной структуры ламины, динамических характеристик ламинов ядерной оболочки, перемещению хроматина в ядре в интерфазе;

использованы современные методики сбора и обработки исходной информации, в том числе уникальный современный комплекс микроскопического оборудования.

Личный вклад соискателя состоит в его участии на всех этапах научного процесса: глубоком анализе научной литературы, относящейся к теме диссертации, непосредственном участии соискателя в определении цели и задач

исследования, планировании и разработке научных экспериментов, получении первичных данных и их интерпретации, обработке и анализе данных, в том числе написании приложений для программ обработки изображений, личном участии в апробации результатов исследования, подготовке публикаций по теме выполненной работы.

На заседании 16 февраля 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Жиронкиной Оксане Андреевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них - 7 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации - 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за - 15, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., профессор



В.А.Голиченков

Ученый секретарь диссертационного совета

к.б.н.



Е.Н.Калистратова

Декан биологического факультета МГУ

д.б.н., академик РАН



М.П.Кирпичников

Дата оформления заключения 18.02. 2016

