

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
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 08.12.2023 г. № 9

О присуждении Юдкину Дмитрию Владимировичу, гражданину РФ, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Молекулярно-биологические основы синдрома ломкой X-хромосомы» по специальности 1.5.3 – молекулярная биология принята к защите 05.09.2023 г. (протокол заседания № 4) 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, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, приказ от 12.04.2018 № 403/нк, изменения от 08.02.2021 г. № 111/нк, от 12.10.2022 г. № 1162/нк.

Соискатель Юдкин Дмитрий Владимирович, 1981 года рождения, в 2003 году окончил Новосибирский государственный университет по специальности «биология».

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Цитогенетическая и молекулярная организация В-хромосом хищных семейства Canidae» защитил в 2006 году в диссертационном совете Д-003.011.01, созданном на базе Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (630090, г. Новосибирск, просп. Лаврентьева, 10). Работает заведующим отдела геномных исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Диссертация выполнена в отделе геномных исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Научный консультант – доктор биологических наук, профессор, член.-корр. РАН Графодатский Александр Сергеевич, заведующий отделом ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Гуляева Людмила Федоровна, доктор биологических наук, профессор, НИИМБ структурное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», руководитель лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза;

Салина Елена Артёмовна, доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», главный научный сотрудник отдела молекулярной генетики растений;

Рябчикова Елена Ивановна, доктор биологических наук, профессор, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, главный научный сотрудник группы микроскопических исследований.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, в своем положительном заключении, подписанном Муравенко Ольгой Викторовной, доктором биологических наук, профессором, главным научным сотрудником лаборатории молекулярной кариологии ИМБ РАН, и утвержденном заместителем директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук Ивановым Александром Владимировичем, доктором биологических наук, указала, что диссертационная работа Юдкина Дмитрия Владимировича является законченной научной работой, в которой проведено комплексное исследование молекулярных механизмов патогенеза синдрома ломкой X-хромосомы с использованием самых современных подходов.

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, а также методологическому и методическому уровню полученных результатов

рассматриваемая диссертационная работа полностью соответствует критериям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 56 научных работ, по теме диссертации опубликовано 20 работ в изданиях, которые входят в перечень ВАК и международные научные базы Web of Science и Scopus, наиболее значимые работы:

1. Gridina M.M., Shitik E.M., Lemskaya N.A., Minina J.M., Grishchenko I.V., Dolzkiy A.A., Shorina A.R., Maksimova Y.V., Yudkin D.V. Derivation of iPS cell line (ICGi032-A) from a patient affected with fragile X syndrome. // Stem cell research. 2021. V. 57. P. 102615.

2. Grishchenko I.V., Tulupov A.A., Rymareva Y.M., Petrovskiy E.D., Savelov A.A., Korostyshevskaya A.M., Maksimova Y.V., Shorina A.R., Shitik E.M., Yudkin D.V. A transgenic cell line with inducible transcription for studying (CGG)_n repeat expansion mechanisms. // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2021. Т. 25. №1. С. 117-124.

3. Dolzkiy A.A., Yarushkin A.A., Grishchenko I.V., Lemskaya N.A., Pindyurin A.V., Boldyreva L.V., Pustyl'nyak V.O., Yudkin D.V. miRNA expression and interaction with the 3'UTR of FMR1 in FRA_Xopathy pathogenesis. // Non-coding RNA research. 2020. V. 6. N. 1. P. 1–7.

4. Grishchenko I.V., Purvinsh Y.V., Imatdinov I.R., Kulemzin S.V., Yudkin D.V. Cell system with inducible transcription for the study of CGG repeat instability. // European journal of human genetics. 2020. V. 28. N. 1. P. 359.

5. Dolzkiy A.A., Krainikova L.V., Pindyurin A.V., Boldyreva L.V., Yudkin D.V. Human FMR1 gene expression regulation by microRNA in a cellular model. // European journal of human genetics. 2020. V. 28. N. 1. P. 337.

6. Gridina M.M., Orlova P.A., Minina J.M., Shitik E.M., Lemskaya N.A., Grishchenko I.V., Dolzkiy A.A., Shorina A.R., Maksimova Y.V., Yudkin D.V., Serov O.L. Establishment of an induced pluripotent stem cell line (ICGi026-A) from peripheral

blood mononuclear cells of a patient with fragile X syndrome. // Stem cell research. 2020. V. 49. P. 102070.

7. Shitik E.M., Velmiskina A.A., Dol'skiy A.A., Yudkin D.V. Reactivation of FMR1 gene expression is a promising strategy for fragile X syndrome therapy. // Gene therapy. 2020. V. 27. N. 6. P. 247–253.

8. Grishchenko I.V., Purvinsh Y.V., Yudkin, D.V. Mystery of expansion: DNA metabolism and unstable repeats. // Advances in experimental medicine and biology. 2020. V. 1241. P. 101–124.

9. Dol'skiy A.A., Lemskaya N.A., Yudkin D.V. New insights on the role of noncoding RNAs in the pathology of Fragile X-associated disorders. // European journal of human genetics. 2019. V. 27. P. 1732.

10. Yudkin D.V., Grishchenko I.V., Tulupov A.A., Rymareva Y.M., Maksimova Y.V., Shorina A.R. Somatic instability of CGG repeats in the FMR1 gene is a factor in symptom severity in Fragile X syndrome patients. // European journal of human genetics. 2019. V. 27. P. 1387-1388.

11. Yudkin D., Lemskaya N., Bobokova T., Galanina E., Kolesnikova I. Chromosome fragile site FRAXA visualization in fragile X syndrome patients. // European journal of human genetics. 2018. V. 26. P. 929.

12. Dol'skiy A.A., Pustyl'nyak V.O., Yarushkin A.A., Lemskaya N.A., Yudkin D.V. Inhibitors of histone deacetylases are weak activators of the FMR1 gene in fragile X syndrome cell lines. // BioMed research international. 2017. V. 2017. P. 3582601.

13. Isanova E., Petrovskiy E., Savelov A., Yudkin D., Tulupov A. Resting-state fMRI study of patients with fragile X syndrome. // J. Phys.: Conf. Ser. 2017. V. 886. P. 012007.

14. Бобокова Т.С., Лемская Н.А., Колесникова И.С., Юдкин Д.В. Метод молекулярно-цитогенетической визуализации ломкого сайта FRAXA. // Молекулярная биология. 2017. Т. 51. №4. С. 704-709.

15. Исанова Е.Р., Петровский Е.Д., Савелов А.А., Юдкин Д.В., Лемская Н.А., Дольский А.А., Тулупов А.А. Исследование нейрональной активности головного мозга у пациентов с синдромом ломкой х-хромосомы методом функциональной МРТ. // Российский электронный журнал лучевой диагностики. 2017. Т. 7. №3. С. 23-30.

16. Galanina E.M., Tulupov A.A., Lemskaya N.A., Korostyshevskaya A.M., Maksimova Y.V., Shorina A.R., Savelov A.A., Sergeeva I.G., Isanova E.R., Grishchenko I.V., Yudkin D.V. A female patient with FMR1 premutation and mosaic X chromosome aneuploidy and two sons with intellectual disability. // *Molecular syndromology*. 2017. V. 8. N. 2. P. 110–114.

17. Юдкин Д.В., Лемская Н.А., Грищенко И.В., Дольский А.А. Изменение состава хроматина при экспансии тринуклеотидного повтора CGG в гене *fmr1*. // *Молекулярная биология*. 2015. Т. 49. №2. С. 205-211.

18. Yudkin D., Hayward B.E., Aladjem M.I., Kumari D., Usdin K. Chromosome fragility and the abnormal replication of the FMR1 locus in fragile X syndrome. // *Human molecular genetics*. 2014. V. 23. N. 11. P. 2940–2952.

19. Lokanga R.A., Entezam A., Kumari D., Yudkin D., Qin M., Smith C.B., Usdin K. Somatic expansion in mouse and human carriers of fragile X premutation alleles. // *Human mutation*. 2013. V. 34. N. 1. P. 157–166.

20. Kumari D., Lokanga R., Yudkin D., Zhao X.N., Usdin K. Chromatin changes in the development and pathology of the Fragile X-associated disorders and Friedreich ataxia. // *Biochimica et biophysica acta*. 2012. V. 1819. N. 7. P. 802–810.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

от д-ра биол. наук, профессора Чурикова Н.А. (ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, заведующий лабораторией) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук Дубовского И.М. (ФГБОУ ВО НГАУ, заведующий лабораторией) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук Ядренкиной Е.Н. (ФГБНУ Институт систематики и экологии животных СО РАН, старший научный сотрудник) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук, проф., акад. РАН Жимулева И.Ф. (ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, научный руководитель, заведующий лабораторией) – отзыв полностью положительный; от д-ра биол. наук Колесниковой Т.Д. (ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, ведущий научный сотрудник) – отзыв положительный, содержит замечания, касающиеся стилистики текста автореферата и диссертации; от д-ра биол. наук, проф. Лебедева И.Н. в.р.с. директора и канд. биол. наук Толмачевой Е.Н. научного сотрудника (ФГБНУ

Томский НИМЦ) – отзыв полностью положительный; от канд. биол. наук Охлопкова И.М. (Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Якутский научный центр СО РАН», директор) – отзыв полностью положительный.

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

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- доказано, что соматическая экспансия повтора CGG происходит как у модельных трансгенных мышей, так и у пациентов с премутацией по гену *FMR1*;
- доказано, что соматическая экспансия повтора CGG в гене *FMR1* отличается в органах и тканях и не выявлено ее взаимосвязи с уровнем пролиферации клеток и уровнем транскрипции;
- разработана методика для расчета индекса соматической нестабильности повтора CGG в гене *FMR1*, которая учитывает разброс значений размеров повторов и не зависит от эффективности амплификации;
- предложен подход для визуализации ломкого сайта FRAXA на X-хромосоме с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* и показано, что этот подход может быть использован для выявления ломких сайтов у пациентов с заболеваниями, ассоциированными с ломкой X-хромосомой;
- доказано, что в районе 5' нетранслируемой области гена *FMR1* расположены три ориджина репликации, один из которых является доминирующим; при экспансии повторов происходит его подавление;
- доказано, что причина образования ломкого сайта FRAXA это недорепликация участка увеличенного повтора, а блокаторы чекпойнтов снижают ломкость хромосом за счет того, что не дают клеткам входить в деление;
- предложено не рассматривать ингибиторы деацетилаз гистонов как перспективные препараты для лечения синдрома ломкой X-хромосомы, так как они

реактивируют экспрессию гена *FMRI* на крайне низком уровне при высокой цитотоксичности.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- доказано, что в разных тканях носителей премутации – разная степень соматической нестабильности повтора CGG в гене *FMRI*;
- доказана взаимосвязь индекса соматической нестабильности повторов CGG с изменениями функциональной коннективности отделов головного мозга пациентов с заболеваниями, ассоциированными с ломкой X-хромосомой;
- изучена активация репликации в районе ломкого сайта FRAXA и на основании полученных данных впервые предложена модель образования редких ломких сайтов хромосом, основанная на недорепликации участка увеличенного повтора;
- доказано, что ингибиторы ДНК-метилтрансфераз имеют значительно больший реактивирующий эффект на экспрессию подавленного гена *FMRI*, чем ингибиторы деацетилаз гистонов
- применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр современных методов исследования и различные биологические модели.

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

- создана схема расчета индекса соматической нестабильности, который имеет важное прогностическое значение для медико-генетического консультирования пациентов с заболеваниями, ассоциированными с ломкой X-хромосомой;
- разработан и внедрен метод молекулярно-цитогенетической визуализации ломкого сайта FRAXA, с помощью которого обследованы пациенты с подозрением на синдром ломкой X-хромосомы;
- представлены данные по влиянию ингибиторов деацетилаз гистонов на экспрессию гена *FMRI*, которые вносят значительный вклад в разработку методов лечения синдрома ломкой X-хромосомы.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- для экспериментальных работ все исследования проведены с использованием адекватных моделей: лабораторных животных, культур клеток и тканей пациентов с заболеваниями, ассоциированными с ломкой X-хромосомой;

- теория согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- идея работы базируется на анализе научных публикаций о распространенности и патогенезе заболеваний, ассоциированных с ломкой X-хромосомой, и о существующих подходах к диагностике и терапии этих патологий;
- использованы данные четырехсот шестидесяти шести наиболее значимых научных работ по теме исследования для составления литературного обзора и сопоставления с ними полученных автором результатов;
- установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;
- использованы современные молекулярно-биологические, молекулярно-цитогенетические, и статистические методы, методы работы с культурами клеток эукариот.

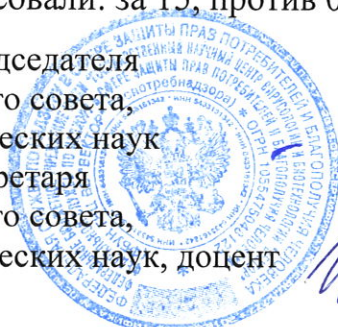
Личный вклад соискателя состоит в выполнении или непосредственном участии в экспериментальной работе, анализе и интерпретации результатов, подготовке основных публикаций.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Юдкин Д.В. аргументированно ответил на все заданные ему в ходе заседания вопросы.

На заседании 8 декабря 2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Юдкину Д.В. ученую степень доктора биологических наук **за решение научной задачи**, связанной с исследованием молекулярных механизмов патогенеза синдрома ломкой X-хромосомы и разработкой подходов к диагностике и лечению этого заболевания.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 4 доктора наук по специальности 1.5.3 — молекулярная биология, биологические науки, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 15, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета,
доктор биологических наук
И.о. ученого секретаря
диссертационного совета,
доктор биологических наук, доцент
08.12.2023 г.



Handwritten signatures in blue ink of Alexander Petrovich Agafonov and Tatiana Nikolaevna Ilycheva.

Александр Петрович Агафонов

Татьяна Николаевна Ильичева