

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Галактионова Николая Кирилловича

«Транспозон *hemarI*: организация в геноме и роль в формировании генетического разнообразия партенит и церкарий трематод *Himasthla elongata* (Trematoda, Echinostomatidae)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология

Диссертация посвящена решению одной из фундаментальных проблем современной молекулярной биологии и расширяет представления о структуре и функции геномов многоклеточных организмов. Тема, несомненно, актуальна, поскольку она вносит вклад не только в понимание организации геномов, но и затрагивает вопросы эволюции.

В основе работы лежит идея о том, что мобильные элементы генома могут служить факторами, приводящими к возникновению геномного разнообразия, не сцепленного с половым процессом. В качестве объекта исследования выбран паразитический плоский червь *Himasthla elongata* (Trematoda, Echinostomatidae), в сложном жизненном цикле которого имеет место чередование гермафродитного (мариты в окончательном хозяине — серебристой чайке *Larus argentatus*) и партеногенетических (партениты — материнская спороциста и редии в первом промежуточном хозяине — моллюсках *Littorina spp.*) поколений. В результате проведенного исследования в геноме *H. elongata* впервые выявлен и изучен транспозон *hemarI*, принадлежащий к классу ДНК-транспозонов *mariner*, подклассу *capitata*. Выбор объекта был связан также с использованием его для проверки гипотезы о горизонтальном переносе транспозонов семейства *mariner* в системах паразит-хозяин между представителями филогенетически удаленных видов. С использованием методов молекулярного анализа показано, что транспозон *hemarI* может участвовать в формировании вариативности генома у трематод, однако не было установлено фактов его переноса в геномы промежуточного и окончательного хозяев.

Диссертация написана в традиционной манере и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и «Выводы». Рукопись оформлена аккуратно, текст изложен ясным академическим языком на 104 страницах, включая приложение. Основные результаты исследования проиллюстрированы 22 рисунками и 5 таблицами, а также 3 таблицы вынесены в конец работы.

Краткая характеристика проблемы, которой посвящена диссертация, дается во введении, обосновывается ее актуальность, выбор объекта исследования, формулируются цели и задачи, подчеркивается научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также дается представление об основных положениях, выносимых на защиту. Цель исследования сформулирована четко и полностью соответствует выполненной работе. Обзор литературы знакомит с современным состоянием проблемы и спектром используемых методов. Для решения поставленных задач автором был использован богатый набор современных методов молекулярной биологии и биоинформатики, которые описаны в соответствующей главе, были адаптированы ранее описанные методы и использованы различные подходы для верификации полученных данных. Достоверность представленных результатов не вызывает сомнения, так как использование метода TID (transposon insertion display) в сочетании с традиционными методами выявления генетического разнообразия позволило повысить степень надежности экспериментальных данных.

Обсуждение полученных результатов демонстрирует, что автор прекрасно представляет себе современное состояние проблемы, отлично ориентируется в существующих гипотезах и адекватно оценивает результаты своего исследования. Выводы, сделанные на основании исследования, адекватны методам и полученным

результатам, а положения, выносимые на защиту, подтверждаются экспериментальными данными. Список цитированной литературы содержит 162 источника, из них 9 на русском языке. Список оформлен аккуратно, единообразно, но не в соответствии с требованиями действующего стандарта составления библиографических ссылок ГОСТ Р 7.0.5-2008. В тексте диссертации автор ссылается, в том числе, на опубликованные собственные данные, что полностью соответствует Положению о порядке присуждения ученых степеней (в редакции Постановления Правительства РФ от 20.06.2011 № 475).

Научная новизна выполненного исследования не вызывает сомнений, так как в ходе ее выполнения впервые был идентифицирован и охарактеризован транспозон *mariner* трематоды *H. elongata*, в том числе определены его концевые последовательности, а также на его примере показано участие транспозонов, как наиболее пластичных элементов генома, в формировании генетического разнообразия партенит и церкарий трематод. Новые данные о механизмах поддержания высокого уровня индивидуальной генетической изменчивости имеют не только важное фундаментальное значение для понимания эволюции многоклеточных организмов, но и имеют практическое значение для разработки подходов к лечению заболеваний, вызванных инфицированием патогенными видами трематод. Результаты исследования могут быть использованы в курсах лекций для студентов биологических и медицинских факультетов высших учебных заведений.

В ходе знакомства с данными исследования появились вопросы дискуссионного характера:

1. На основе результатов молекулярного и цитологического анализа автор делает вывод о распределении транспозона *hemarI* в геноме в виде отдельных копий и кластеров, есть ли у автора какие-то предположения о характере организации таких кластеров, их структуре и механизмах их формирования?
2. Результаты работы свидетельствуют о высоком уровне внутриклональной изменчивости, возникающей в ходе эмбриогенеза партеногенетического поколения. При этом в результате анализа транскриптома автором обнаружено наличие активных копий *hemarI*. Не предпринимались ли попытки оценить с помощью использованных в работе методов возможный вклад транспозона *hemarI* в соматический мутагенез?
3. Благодаря анализу в процесс исследования 3 клонированных копий *hemarI* у автора была возможность проанализировать характер нуклеотидных замен и предположить высокий уровень дивергенции *hemarI* в геноме. Можно ли предположить, что вклад транспозонов в возникновение геномного разнообразия может обуславливаться не только их подвижностью в геноме, но и склонностью к изменчивости отдельных копий в местах их локализации?

Содержание автореферата полностью соответствует тексту диссертации. Многочисленные иллюстрации помогают в полной мере ознакомиться с полученными результатами, в то же время использование слишком мелкого шрифта в рисунках следует отнести к недостаткам оформления автореферата.

В «Обзоре литературы» для лучшего понимания материала мне не хватило двух вещей. Во-первых, нет описания того, каким образом происходит рост числа копий ДНК-транспозонов в геноме, в то время как их транспозиция происходит по механизму “cut and paste” (вырезание и интеграция), который сам по себе не может приводить к накоплению в геноме копий транспозона. Во-вторых, отсутствует описание транскрипции ДНК-транспозонов и, в частности, *mariners*. Остаётся не понятным, где начинается и кончается их транскрипция. В связи с этим, в разделе «Результаты» я несколько иначе, чем автор интерпретировал бы одну из деталей представленную на рисунке 9. Диссертант полагает, что сигналом полиаденирования служит гексамер AAUAAA, расположенный в 70 нуклеотидах от конца элемента *hemarI*; такое удаленное расположение, совсем не характерно для сигналов полиаденирования. Намного вероятней, что эту функцию выполняет гексамер AGUAAA, находящийся в 24 нуклеотидах от конца *hemarI*.

В диссертации и в автореферате встречаются досадные опечатки. На стр. 14 автореферата раздел 1.2 заканчивается словами «Не смотря на», и на этом раздел

заканчивается. Мало того, что «несмотря» пишется слитно, но хотелось бы знать, что дальше. В ряде мест текста написано «в течении» вместо «в течение». Автор любит ставить ненужную запятую после слова «однако». В диссертации стр. 53 практически пустая, это небрежное форматирование; на стр. 60 в подписи к рисунку CY5 – не черный, а зеленый, DAPI соответственно синий, а не серый, и вся подпись странная: она скорее является обсуждением, чем подписью под рисунком. На стр. 100 есть загадочное заглавие «Благодарности», но этот раздел отсутствует. Сделанные замечания не носят принципиального характера и не могут существенно снизить высокую оценку диссертации.

По теме исследования опубликованы 4 статьи в рецензируемых российских и международных периодических изданиях, индексируемых наукометрическими базами РИНЦ, и WoS, а также включены в виде главы в состав монографии. Результаты неоднократно апробированы на международных и всероссийских научных конференциях.

Диссертация Николая Кирилловича Галактионова на тему «Транспозон *hemarI*: организация в геноме и роль в формировании генетического разнообразия партенит и церкарий трематод *Himasthla elongata* (Trematoda, Echinostomatidae)» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора биологических наук, профессора О.И.Подгорной. Она содержит новые данные о диспергированных повторах, что имеет существенное значение для молекулярной биологии в области исследования структуры и функции геномов. Работа соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Отзыв составлен

Зав. Лаборатория эволюции геномов

эукариот

ФГБУН Институт молекулярной биологии

им. В.А.Энгельгардта РАН

Д.б.н., проф., Д. А. Крамеров



Адрес: ГСП-1, 119991, г. Москва
ул. Вавилова, д. 32, ФГБУН ИМБ РАН
Тел.: 8(499)135-23-11, 8(499)135-11-69
e-mail: kramarov@eimb.ru



20 августа 2015 г.