

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Институт
молекулярной и клеточной биологии Сибирского
отделения Российской академии наук, академик
РАН Жимулев И.Ф.



28 марта 2017 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Соловьевой Анны Ивановны «Мобильные элементы участвуют в образовании клональной изменчивости *Himasthla elongata* (Trematoda, Himasthlidae)», представленной к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Основные научные результаты и их актуальность для науки и практики

Несмотря на огромную роль повторенных генетических элементов эукариот в эволюции и функционировании генома, их тщательный анализ проводится редко, а большинство проектов по секвенированию генома уделяют этой фракции недостаточно внимания. В настоящей работе автор демонстрирует вклад LINE-подобных ретроэлементов в формирование клональной изменчивости партеногенетических линий плоских червей *Himasthla elongata*. Выбор объекта вполне оправдан тем, что данная группа организмов очень плохо изучена, хотя в нее входит много паразитов человека и сельскохозяйственных животных. Фундаментальное значение исследований геномной нестабильности трудно переоценить, тут много открытых вопросов и в механизмах эволюции геномов и в прогрессии злокачественных заболеваний.

Используя метод амплификации прилежащих к сайтам рестрикции HindIII последовательностей, автор выявляет полиморфные геномные участки, часть которых клонируют, секвенируют и используют для анализа представленности у родственных особей. Автор впервые исследует хромосомы данного вида и даже предлагает идеограмму хромосом. С помощью методов молекулярной цитогенетики автор проводит анализ локализации некоторых повторенных последовательностей на хромосомах. Кроме того, в данной работе автором впервые отсеквенирован и проанализирован транскриптом данного вида.

Общая оценка работы

Диссертация написана доступным языком по стандартной схеме, представлена на 116 страницах машинописного текста. Список литературы состоит из 141 ссылок. Большинство процитированных данных опубликованы за последние годы в ведущих журналах по данной тематике.

В первой главе приведен обзор литературы с пятью рисунками, посвященный общему описанию мобильных элементов генома и их роли в функционировании генома и эволюции. Кроме того, имеется глава, посвященная описанию объекта исследования.

Вторая глава изложена на 10 страницах и содержит краткое описание молекулярно-биологических, цитологических и биоинформатических подходов, использованных в работе.

Глава «Результаты» является максимальной по объему (25 страниц) и содержит 15 рисунков и три таблицы.

Глава «Обсуждение результатов» довольно объемная. Странно, что и глава «Результаты» и глава «Обсуждение результатов» совершенно никак не описывают, не анализируют и не обсуждают транскриптом данного вида, хотя эта часть работы выполнена.

Выводы полностью поддерживаются полученными результатами.

Автореферат написан хорошо и полностью соответствует диссертационной работе.

Научно-практическая значимость

Проведенное исследование вносит заметный вклад в понимание изменчивости у плоских червей. Приведенный метод отличается от ранее опубликованных и может использоваться для организмов небольшого размера или в том случае, когда в распоряжении исследователей имеется только небольшое количество геномной ДНК.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Результаты работы могут представлять значительный интерес как для научно-исследовательских организаций, занимающихся изучением происхождения клональной изменчивости у разных организмов, а знание геномных особенностей данной группы организмов в перспективе может иметь практическое приложение при разработке антигельминтных препаратов.

Общие замечания

В работе очень не хватает описания основного метода S-SAP и рассуждения, почему именно данный метод был выбран для анализа клонов, какие у него достоинства и недостатки. Всему этому можно было бы посвятить хотя бы несколько предложений во введении и как минимум одну главу в обзоре литературы. Тем более, совершенно не понятно, в чем является специфичность данного метода (S-SAP - sequence-specific amplification polymorphism), ведь в статье, на которую ссылается автор, используются праймеры из LTR района повторенного элемента, а в данной работе изучаются просто прилегающие к сайту HindIII последовательности с дополнительными нуклеотидами для уменьшения количества ампликонов на геном, и нигде не указывается на использование праймера с ретроэлемента. Поскольку предложенный в данной работе метод все же работает и оказался успешным в выявлении полиморфизма геномных районов, то можно было бы ввести для него новое обозначение.

Представленные кариотипы очень низкого качества по сравнению с другими опубликованными кариотипами плоских червей. Автор утверждает, что в этом заключается особенность данного вида, но необходимо больше доказательств, без которых это очень похоже на артефакт приготовления препаратов. Очень странно выглядят гомологичные хромосомы. Так, гомологи хромосом 1 и 2 на рисунке 15

похожи на перпендикулярно развернутые мелкие акроцентрики. Неужели для этой картинки была выбрана лучшая метафаза? Идеограмма предварительна и, несомненно, нуждается в уточнении, поскольку предполагает воспроизводимую разницу в морфологии сестринских хроматид, что довольно сильно отличается от строения хромосом большинства изученных на сегодня организмов.

Стр. 5 диссертации «Траспозоны ... ответственные за синтении»... не очень понятно, что имеется в виду. Синтения — это консерватизм сцепления. Почему именно транспозоны ответственны за консерватизм, может, скорее за нарушения синтении в эволюции?

Во введении не хватает объяснения термина «партениты».

Положение 3 «фрагментом, который основан на спейсерных участках LINE». Как может фрагмент ДНК быть основан на участке LINE? Может, имеется в виду «гомологичен участку LINE» или «происходит из участка LINE»?

Положение 4. «Обе группы основанных на LINE фрагментов активно транскрибируются и, следовательно, вносят вклад в КИ» Выше речь шла о клональной изменчивости геномов, последнее положение имеет в виду клональную изменчивость транскриптомов, это необходимо уточнить.

Необычно, что авторы выявили полиморфизм по локализации рибосомных кластеров. Обычно локализация ЯОР у эукариот методом FISH дает воспроизводимую картину. Не может ли это быть связано с методическими трудностями?

В целом очень мало ссылок на подобные (в том числе и по анализу повторенных элементов генома) работы у других плоских червей, которых не так мало.

В разделе «Методы» заявляется о секвенировании и анализе транскрипта данного вида, но представлено очень мало данных по анализу этого транскрипта и его сравнению с транскриптами других видов.

В целом, в тексте работы есть небольшое количество опечаток, не влияющих на общий смысл

Следует заметить, что эти замечания не носят принципиальный характер и не умаляют научно-практической значимости диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Соловьевой Анны Ивановны «Мобильные элементы участвуют в образовании клональной изменчивости *Himasthla elongata* (Trematoda, Himasthlidae)», представленная на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология, является исследованием с ясно выраженными основными идеями и высоким уровнем научной новизны. Выводы соответствуют полученным данным, а результаты раскрыты достаточно подробно для свободного прочтения специалистом широкого профиля. Значительная часть работы опубликована в журналах и обсуждена на научных конференциях. Представленная работа по своей актуальности, научной новизне, теоретической значимости результатов полностью отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства РФ, а ее автор Соловьевой А. И. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на семинаре Отдела разнообразия и эволюции животных от 15 марта 2017 г., протокол № 52.

Заведующий лабораторией сравнительной геномики
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН,
к.б.н.



В.А. Трифонов

28 марта 2017 г.

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Пр. Ак. Лаврентьева 8/2

630090 Новосибирск

Тел: 363-90-41

<https://www.mcb.nsc.ru/mcb>

Специальность лица, утвердившего отзыв (академика Жимулева И.Ф.), – 03.02.07 - генетика.

