

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, главного научного сотрудника, заведующего лабораторией геносистематики Лимнологического института СО РАН Щербакова Дмитрия Юрьевича

на диссертационную работу Каменской Дарьи Николаевны «Сравнительный анализ регуляторных последовательностей паралогичных генов гормона роста у лососевых рыб», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук, по специальности 1.5.7. Генетика

Актуальность Диссертационная работа Каменской Д.Н. посвящена исследованию регуляторных участков в паралогичных генах гормона роста лососевых рыб. Лососевые рыбы, как одни из самых ценных и экономически важных промысловых видов, привлекают внимание исследователей из целого ряда научных областей. А поскольку лососевые являются естественными и относительно недавними полиплоидами, у которых процесс диплоидизации генома еще не завершился, то выбор их, как объекта для изучения особенностей дуплицированных генов, представляется вполне обоснованным. Дупликация лежит в основе появления нового генетического материала и важно понимать какие изменения претерпевают вновь возникшие копии генов, чтобы оценить их вклад в эволюционные процессы. Актуальность данной работы состоит в том, что автор сравнивает регуляторные участки, где присутствуют элементы ответственные за взаимодействие с транскрипционными факторами. На участке промотора, непосредственно перед транскрибируемой частью гена, собирается транскрипционный комплекс, происходит инициация транскрипции. В зависимости от того какие факторы взаимодействуют с последовательностями сайтов связывания определяется специфичность синтезируемого белкового продукта. Изменения сайтов связывания с транскрипционными факторами могут указывать на изменение функционального потенциала одной из дуплицированных копий. А поскольку после дупликации одна из копий претерпевает различные изменения и может как совсем перестать функционировать, так и приобрести новые функции, начальные этапы этих изменений можно отследить, анализируя регуляторные последовательности.

Новизна исследования связана с неполным представлением о структуре и строении регуляторных участков паралогичных генов гормона роста у лососевых рыб. В диссертационной работе впервые были получены и охарактеризованы промоторные последовательности паралогичных генов гормона роста *gh1* и *gh2* у четырех видов гольцов рода *Salvelinus*. Проведен сравнительный анализ сайтов связывания с транскрипционными факторами, расположенными в промоторной области, среди представителей трех родов семейства Salmonidae: *Salvelinus*, *Salmo* и *Oncorhynchus*, установлены общие закономерности и показаны различия в организации регуляторных участков у исследованных видов.

Структура диссертации

Диссертационная работа имеет стандартную структуру. За оглавлением располагается список сокращений, используемых в тексте. Основной текст состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Общее число страниц диссертации 153, из которых 130 страниц занимает основной текст, на 19 страницах размещен список цитируемой литературы из 188 источников (из них 176 на иностранном языке) и на четырех страницах представлены приложения, в которые вынесены таблицы. Основной текст диссертационной работы включает 11 таблиц и 21 иллюстрацию.

Во Введении автор дает краткий обзор процесса дупликации, который является основным источником появления новых генов в геноме, обосновывает проблему, актуальность исследова-

ния, описывает степень разработанности темы, формулирует положения, выносимые на защиту, отмечает новизну и значимость диссертационной работы, представляет методы и методологию исследования. Цели и задачи сформулированы четко. Определен личный вклад автора и степень достоверности, полученных результатов. Представлены также публикации основных результатов диссертационного исследования и апробация их на научных мероприятиях различного уровня. Описаны объем и структура диссертации.

Обзор литературы достаточно информативен, имеет логичную структуру от общих вопросов к частным. В обзоре представлено подробное описание структуры гена гормона роста для большого числа видов позвоночных животных. В отдельном разделе автор приводит данные о структуре гена гормона роста у рыб, где делает акцент не только на особенностях строения гена гормона роста, но и на количестве его копий у представителей разных отрядов. В разделе, посвященном организации регуляторных участков гена гормона роста, описаны сайты связывания с транскрипционными факторами, которые встречаются в промоторах разных видов. Из данного раздела, видно, что регуляторным участкам уделяется не так много внимания, как структурной части гена, а в случае дублированных генов изменения в регуляторной части могут указывать на текущие процессы приобретения новых функций одной из копий, поэтому актуальность выбора направления данного исследования вполне обоснована. В целом обзор литературы свидетельствует о хороших практических и теоретических знаниях автора, содержит интересные и современные сведения о проблеме, позволяя использовать данные литературы в качестве фундаментальной основы для осмысления и обсуждения результатов диссертационной работы.

Материалы и методы Вторая глава содержит описание образцов и методов, применявшихся автором при выполнении диссертационной работы. В разделе 2.1. представлены виды, которые были использованы в исследовании, для четырех видов гольцов рода *Salvelinus* автор приводит подробную систематику и описывает места сбора материала, а для нуклеотидных последовательностей остальных представителей семейства Salmonidae указаны номера из базы данных GenBank (NCBI). В разделах 2.2. – 2.8. представлены молекулярно-генетические методы, а именно выделение и амплификация ДНК, разработка праймеров к последовательности промотора паралогичных генов гормона роста, молекулярное клонирование очистка и секвенирование продуктов ПЦР.

Обработка полученных данных проводилась с использованием комплекса современных компьютерных программ в целом на высоком профессиональном уровне. Выбор программ для анализа, используемых моделей и настроек представляется обоснованным. В целом лабораторные и статистические методы соответствуют задачам и описаны достаточно подробно для воспроизведения.

Результаты включает три основных раздела, в разделе, посвященном оценке дивергенции паралогичных генов, автор выделяет два подраздела рассматривая дивергенцию промоторной области и транскрибируемой части гена гормона отдельно. Результаты логично изложены, хорошо иллюстрированы. В разделе 3.1. представлена информация о промоторных участках четырех видов гольцов рода *Salvelinus*, описаны основные сайты связывания с транскрипционными факторами. Автор отмечает, что у всех четырех видов гольцов рода *Salvelinus* в промоторах обоих генов встречаются последовательности ТАТА-бокса, сайты связывания с гипофиз-специфичным транскрипционным фактором Pit-1 (F1–F4), элементы ответа на цАМФ (CRE) и глюкокортикоиды (GRE), сайты связывания с рецептором ретиноевой кислоты (RARE/RXRE). Положение в промоторе и нуклеотидные последовательности данных сайтов между паралогичными генами *gh1* и *gh2* оказались достаточно консервативны. В разделе 3.2. автор сравнивает последовательности промотора и транскрибируемой части генов гормона роста четырех видов гольцов рода *Salvelinus* с неркой, чавычей и атлантическим лососем и с помощью метода скользящего окна оценивает уровень дивергенции этих участков. В результате анализа было показано, что что

между разными видами внутри одного семейства последовательности генов *gh1* и *gh2* имеют достаточно низкий уровень дивергенции.

Обсуждение результатов достаточно подробное, автор выдвигает ряд гипотез, опираясь на свои результаты и сравнивая литературные данные, отмечает возможность участия в инициации транскрипции генов гормона роста не только тканеспецифичных факторов, но и других белков, сайты связывания с которыми представлены в последовательности промотора. Незначительные различия в значениях дивергенции указывают на то, что одна копия гена гормона роста находится под действием отбора, но еще не претерпела существенных функциональных изменений, которые бы отразились на структуре как транскрибируемой последовательности гена, так и структурных элементов промоторного участка.

Заключение и Выводы завершают работу. В них автор суммирует полученные данные. По результатам работы автором было сформулировано семь выводов, которые логично следуют из анализа собственных результатов и их обсуждения, позволяют судить о достижении цели и решении всех основных задач, поставленных в данной работе.

Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы, включая обобщённые результаты, их обсуждения и выводы.

По теме диссертации опубликовано четыре статьи в журналах из списка ВАК, а также восемь тезисов по теме работы, которые были представлены на шести международных и двух российских конференциях.

Представленная диссертационная работа хорошо структурирована и логически обоснована; автор умеет решать поставленные научные задачи, использовать различные молекулярно-генетические методы, обрабатывать полученный материал и статистически его анализировать. Результаты исследования содержат новые научные данные и свидетельствуют о существенном личном вкладе автора диссертации в изучаемую научную область знаний. Диссертация и автореферат написаны хорошим научным языком, достаточно выверены и содержат минимальное количество опечаток и неудачных формулировок, которые никак не сказываются на достоинствах работы и не заслуживают упоминания в отзыве.

Несмотря на общий высокий научный уровень диссертационной работы можно сделать некоторые замечания общего характера.

Замечания и пожелания

1. В работе практически бездоказательно гены *gh1* и *gh2* называются паралогичными, тогда как в зависимости от принятого определения того, с какого момента ортологи превращаются в паралоги зависит, какой термин следует использовать. Для этой пары гомологов полученные в работе данные свидетельствуют в пользу того, что этот момент формально, возможно, еще не наступил, и они остаются паралогами. В любом случае, использование терминологии заслуживает отдельного обсуждения;
2. В работе подробно рассмотрены установленные и гипотетические пути регуляции активности генов *gh1* и *gh2*. Эта регуляция очевидно весьма сложно устроена, и описание ее получилось весьма громоздким. Может, легче и более эффективно рассматривать в рамках соответствующей генной сети?

Заключение

Таким образом, из вышесказанного можно сделать вывод о том, что диссертационная работа Каменской Дарьи Николаевны «Сравнительный анализ регуляторных последовательностей паралогичных генов гормона роста у лососевых рыб», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является самостоятельным исследованием, которое выполнено на высоком научном и методическом уровне. По актуальности, новизне, степени

обоснованности научных положений и выводов, а также по степени опубликованности основных результатов, эта диссертационная работа полностью отвечает всем требованиям пп. 9 — 11, 13 — 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции от 11.09.2021 г.), а ее автор, Дарья Николаевна Каменская, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. «Генетика».

16 июня 2023г.

Доктор биологических наук,
заведующий лабораторией геносистематики
Лимнологического института СО РАН




Дмитрий Юрьевич Щербаков

Адрес организации:

Федеральное государственное бюджетное отделение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук
664033 Иркутск, ул. Улан-Баторская 3,
тел. (3952) 42-29-23,
Электронная почта: sherb@lin.irk.ru

Подпись заведующего лабораторией, д.б.н. Щербакова Д.Ю. ЗАВЕРЯЮ.
Ученый секретарь ЛИН СО РАН к.б.н. Максимова Н.В.

