

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию Марины Владимировны Паньковой

«СТРУКТУРА И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОВ ГОРМОНА РОСТА ЛОСОСЁВЫХ РЫБ (SALMONIDAE)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика»

Актуальность Гормон роста или соматотропин – это ключевой белок, который играет центральную роль в регуляции соматического роста и связанных с ним многочисленных физиологических процессов, в частности, ионный баланс, липидный и белковый обмен, размножение, иммунный ответи т.д.. Естественно ожидать, что последовательность гена гормона роста должна быть консервативной. В большинстве групп позвоночных животных так оно и есть. Ген, кодирующий GH, представленный единственной копией весьма консервативен, хотя иногда, подобно тому, как это происходит и с другими пептидными факторами, его эволюция в отдельных кладах резко ускоряется.

Ген GH иногда оказывается дублирован, порождая небольшие семейства генов, члены которых могут экспрессироваться с ярко выраженной тканевой специфичностью, как это происходит, например, у человека. Однако не известно до настоящего времени, происходит ли при этом функциональная дифференцировка.

У большинства исследованных рыб гормон роста кодируют два несвязанных паралогичных гена GH1 и GH2. Структура генов у рыб соответствует общей для позвоночных схеме и включает 6 экзонов и 5 интронов. У рыб гены GH эволюционируют быстрее, чем у других позвоночных, возможно, за счет частичной комплементации паралогами друг друга. Таким образом, анализ активности этих генов играет ключевую роль в исследовании соответствующих генных сетей и несомненно актуален и с теоретической и с практической точек зрения.

Практическая актуальность работы М.В. Паньковой обусловлена также и тем, что лососевые рыбы представляют собой уникальную группу, сформировавшуюся после события автотетраплоидизации и последующей дивергенции, и, таким образом, являются естественными и относительно недавними полиплоидами. Как следствие, многие гены в этой таксономической группе видов оказались множественными, в том числе и ген гормона роста. При этом эти виды представляют большую хозяйственную ценность, которая весьма сильно зависит от параметров их роста.

Структура диссертации Диссертация изложена на 140 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа содержит 32 таблицы и 20 рисунков. Список литературы состоит из 174 наименований, из них 167 на английском языке. Автореферат соответствует содержанию диссертации и адекватно его отражает. В целом диссертация имеет традиционную структуру и состоит из «Введения», « Литературного

обзора», «Материала и методов», «Результатов», «Обсуждения» и «Выводов».

Материалы и методы В этом разделе достаточно полно описаны экспериментальные подходы и методы биоинформационного анализа, использованные в работе. Полноты изложения достаточно для воспроизведения полученных автором результатов. Необходимо отметить, что экспериментальный уровень исследования вполне современный, методы адекватны. То же можно сказать и о методах анализа полученных автором экспериментальных данных.

Обзор литературы Литературный обзор достаточно подробен, хорошо написан и даёт хорошее представление о современном состоянии исследований структуры и эволюции гормона роста и кодирующего его гена (генов). Раздел обзора, посвященный экспрессии GH, рисует картину сложной сети взаимодействий, в которой задействован этот ген (или небольшое семейство генов в случаях, когда оно возникает в результате серии дупликаций. В целом литературный обзор хорошо описывает контекст, в котором выполнено исследование М.В. Паньковой.

Результаты обсуждения и заключение . Эта глава структурирована в соответствии с задачами, поставленными в диссертации и соответственно - в соответствии с выводами работы, сделанными на основании экспериментальной работы. Экспериментальные данные подробно обсуждены в контексте сведений, уже имеющихся относительно генов GH.

В результате проведенных исследований М.В. Паньковой удалось выявить некоторые закономерности организации и эволюции паралогичных генов гормона роста у лососевых рыб. Сравнительный анализ структуры паралогичных генов гормона роста у всех видов лососевых рыб, включая гольцов, показал высокое сходство и консервативность. Экзонные последовательности генов оказались весьма консервативными, избыток синонимичных замен по сравнению с несинонимичными свидетельствуют о том, что консерватизм объясняется стабилизирующим отбором. Эти факты делают весьма вероятной гипотезу о том, что оба гена-паралога функциональны и, возможно, экспрессируются тканеспецифично.

Раздельный филогенетический анализ экзонов и интронных последовательностей показал, что скорость дивергенции паралогичных генов гормона роста различается в разных филетических линиях у лососевых рыб. Предполагается, что этот эффект может быть следствием дифференциального давления стабилизирующего отбора.

Сравнительный анализ последовательностей генов GH показал, что в соответствии с ожиданиями, интронные участки дивергируют с более высокой скоростью, примерно в 2 раза, по сравнению с экзонами. Однако эта разница ниже ожидаемой в случае, если бы интронные последовательности были совершенно нейтральны. В то же время, очевидно, что и интронные последовательности подвергаются стабилизирующему отбору. Это согласуется с результатами биоинформационного анализа интронных последовательностей, который выявил потенциальные регуляторные последовательности. С

другой стороны, консервативность интронов можно объяснить эффектом хичхайкинга и/или Хилла-Робертсона.

Выводы, сделанные в диссертации Паньковой, адекватны, полно отражают содержание диссертации и содержат существенный элемент научной новизны

Несомненным достоинством является подробный и адекватный биоинформационный анализ полученных автором экспериментальных результатов. Выводы из этого анализа взвешены, осторожны и в дальнейшем позволяют планировать либо их экспериментальную проверку, либо – дальнейший теоретический анализ в более широком контексте.

При прочтении диссертации и автореферата у меня возник ряд замечаний:

Недостатки диссертационной работы. Замечания касаются терминологии и не использованных в рецензируемой работе возможностей анализа данных. Качество и достаточность собственно экспериментальных данных, а также корректность их первичной обработки у меня никаких замечаний не вызвали.

1. В работе последовательно использован термин «очищающий отбор», что является прямым переводом английского «purifying selection». Несмотря на то, что он вполне подходит для обозначения дефицита несинонимичных замен, мне представляется, что следует употреблять стандартный для русскоязычной литературы «стабилизирующий отбор»;
2. Не понятно, зачем в работе так подробно описано получение практически одинаковых эволюционных деревьев разными методами. На мой взгляд, вполне можно было бы обойтись байесовскими деревьями с соответствующими поддержками особенностей топологии, которые не смещены в отличие от использованного автором бутстрепа;
3. В отличие от нуклеотидных последовательностей, в работе никак не обоснован выбор модели молекулярной эволюции при филогенетических построениях на основании сравнений аминокислотных последовательностей. Вместе с тем, не адекватная модель на фоне относительно небольшого числа информативных сайтов может служить источником существенно заниженных оценок достоверности ветвления (стр. 69)
4. Отмеченное Мариной Владимировной изобилие аутоапоморфий в интронных последовательностях ГН заставляет предполагать, что при анализе нуклеотидных последовательностей можно ожидать гетерозиготы. В работе нет упоминаний о попытках учесть потенциальные гетерозиготы при определении последовательностей

В качестве рекомендации должен заметить, что потенциально интересны были бы аналоговые модели пространственной структуры определенных автором полипептидов с использованием известных 3D структур, доступных в базах данных. Не приводят ли наблюдаемые замены к механическим напряжениям?

Заключение Указанные замечания к диссертационной работе не снижают высокой ценности полученных результатов и значимости сделанных выводов, и не влияют на общее положительное впечатление от работы.

Основные результаты диссертации представлены в виде научных работ, опубликованных в рецензируемых журналах. Основные положения диссертации были неоднократно представлены на конференциях достаточно высокого уровня. Опубликованные статьи и автореферат в достаточной степени отражают сущность диссертации.

Диссертация М.В.Паньковой является законченным исследованием, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. По работе сделаны ясные выводы, соответствующие поставленным задачам. Выводы корректны, адекватны полученным результатам и достаточно обоснованы.

Таким образом, из вышесказанного можно сделать вывод о том, что работа М.В. Паньковой «Структура и эволюция гормона роста лососёвых рыб (Salmonidae)», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченным самостоятельным исследованием, которое по актуальности, объему и новизне, а также по степени опубликованности основных результатов отвечает требованиям соответствующего пункта «Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 №842, а её автор - присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика».

заведующий лабораторией геносистематики
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (ЛИН СО РАН),
664033 Иркутск, ул. Улан-Баторская 3,
тел. (3952) 42-29-23, Электронная почта: sherb@lin.irk.ru

10 мая 2016г.

Доктор биологических наук
Дмитрий Юрьевич Щербаков

Подпись заведующего лабораторией, д.б.н. Щербакова Д.Ю. ЗАВЕРЯЮ.
и.о. ученого секретаря ЛИН СО РАН к.б.н. Максимова Н.В.

