

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 005.008.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ
ЦЕНТР МОРСКОЙ БИОЛОГИИ им. А.В. ЖИРМУНСКОГО»
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 04 декабря 2018 г. № 5

О присуждении Вороновой Анастасии Николаевне, гражданке России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Генетическое разнообразие и филогенетические связи эпидемиологически значимых видов трематод рода *Nanophyetus* Chapin, 1926 (Trematoda: Troglotrematidae)» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 26 сентября 2018 г. (протокол заседания № 4) диссертационным советом Д 005.008.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17, приказ Минобрнауки России 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Воронова Анастасия Николаевна, 1992 года рождения. В 2014 году соискатель с отличием окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дальневосточный федеральный университет» по специальности «биология». В 2018 году соискатель окончила очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, работает в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки

«Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории паразитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Челомина Галина Николаевна, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, главный научный сотрудник лаборатории паразитологии.

Официальные оппоненты:

Щербаков Дмитрий Юрьевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, заведующий лабораторией геносистематики

Туранов Сергей Викторович, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной систематики

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Рысковым Алексеем Петровичем, член-корреспондентом РАН, доктором биологических наук, профессором, заведующим лабораторией организации генома, и Семёновой Серафимой Константиновной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории организации генома, указала, что по содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню и практической ценности полученных результатов диссертационная работа

полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а автор заслуживает присуждения искомой степени.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **3** работы. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Работы по теме диссертации общим объемом 7,51 п.л. посвящены изучению генетического разнообразия, филогенетических связей и паразито-хозяйинных отношений трематод рода *Nanophyetus*. Во всех 7 работах Воронова А.Н. является первым автором, что свидетельствует о большом личном вкладе соискателя. В статьях и в материалах конференций опубликованы основные результаты исследований.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Воронова А.Н.,** Челомина Г.Н. Высокая дивергенция двух морфологически близких видов трематод рода *Nanophyetus* лососевых рыб по данным последовательностей гена *nad1* мтДНК // Биология моря. 2018. Т. 44, № 2. С. 115–119.

2. **Voronova A.N.,** Chelomina G.N., Besprozvannykh V.V., Tkach V.V. Genetic divergence of human pathogens *Nanophyetus* spp. (Trematoda: Troglotremitidae) on the opposite sides of the Pacific Rim // Parasitology. 2017. Vol. 144. P. 601–612.

3. **Voronova A.N.,** Chelomina G.N. Genetic diversity and phylogenetic relations of salmon trematode *Nanophyetus japonensis* // Parasitology International. 2018. Vol. 67. P. 267–276.

На диссертацию и автореферат поступило 3 положительных отзыва.

Ведущий научный сотрудник отдела эволюционной биохимии Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ д.б.н. Алёшин В.В. указал, что для столь сложных структур как транскрибируемые спейсеры рибосомного кластера, принцип минимизации свободной энергии, по которому были построены модели, следовало бы дополнить учётом структур, субоптимальных по разнице свободной энергии образования, а также ковариационным анализом, и отметил, что не совсем

понятно, по какому признаку была выбрана базовая модель ES6^S. Старший научный сотрудник лаб. эволюционной зоологии и генетики Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН к.б.н. Шереметьева И.Н. отметила, что к датировкам, основанным на палеонтологических данных, нужно относиться с большой осторожностью, и указала на многословность некоторых выводов, некорректность утверждения о том, что гаплотип H102 является общим для всех локальных популяций *N. schikhobalowi*, а также на то, что не очень понятен принцип выделения филетической линии L2 на рисунке 5.

Отзыв без замечаний подписал зав. лабораторией экологии микроорганизмов с Международным научно-образовательным Центром молекулярных технологий Школы биомедицины ДВФУ д.б.н. профессор Щелканов М.Ю.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами, имеющими значительное количество публикаций в области молекулярной генетики, филогеографии и геносистематики, а ведущая организация – научным учреждением, в число основных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований которого входят изучение структурно-функциональной организации и механизмов работы генома, в том числе организация, полиморфизм и эволюция эукариотического генома, а также разработки в области геномных технологий.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получены новые данные об изменчивости ядерных генов (18S, 5,8S и 28S) и спейсерных участков (ITS1, ITS2) рибосомного кластера (рДНК) и гена *nad1* митохондриальной ДНК (мтДНК), кодирующего первую субъединицу NADH-дегидрогеназы, у трематод рода *Nanophyetus* (Trematoda: Troglotremitidae) из евразийской (Дальний Восток России), азиатской (Японские острова) и североамериканской (Соединенные Штаты Америки) популяций. Установлено, что представители этих популяций являются самостоятельными видами – *N. schikhobalowi*, *N. japonensis* и *N.*

salmincola соответственно. Показано, что локальные популяции *N. schikhobalowi* из разных речных систем и разных видов рыб-хозяев отличаются уровнем генетической изменчивости и характером распределения нуклеотидных замен. На основании анализа полученных соискателем данных и привлеченных из международной базы GenBank (NCBI) нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК реконструированы филогенетические связи групп класса Trematoda и показано, что возраст рода *Nanophyetus* составляет около 5 млн. лет. Анализ генетического полиморфизма гена *nad1* мтДНК выявил отсутствие свидетельств событий «бутылочного горлышка» в эволюционной истории рода *Nanophyetus* и показал, что увеличение численности различных популяций и обособление основных генеалогических линий происходили в разные периоды, соответствующие среднему плейстоцену. Молекулярно-генетические данные свидетельствуют об общем периоде дивергентной эволюции видов *Nanophyetus* и их основных промежуточных хозяев – лососевых рыб – и допускают возможность совместного видообразования. Построены модели вторичных структур переменных участков малой рибосомной субъединицы 18S рРНК и спейсерных участков (ITS1 и ITS2) с локализацией функциональных сайтов для представителей рода *Nanophyetus*. Сравнительный анализ моделей переменных доменов для нанофиетусов и других видов трематод выявил специфичность укладки ES6^S и ES9^S у представителей разных семейств. Реконструирована вторичная и третичная структура прогнозированной аминокислотной последовательности первой субъединицы NADH-дегидрогеназного комплекса у *N. schikhobalowi*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные молекулярно-генетические данные обеспечивают существенную базу для дальнейших исследований в области систематики и филогенетики паразитических плоских червей из класса Trematoda и способствуют решению вопросов о генетической изменчивости, структуре популяций и реконструкции путей эволюции трематод. Результаты работы дополняют теоретические данные о процессах микроэволюции в геноме трематод.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что в базу данных GenBank (NCBI) депонировано 60 новых последовательностей гена *nad1* мтДНК и 73 последовательности генов и спейсеров рДНК, полученных от 77 экземпляров трематод рода *Nanophyetus* из 3 региональных и 4 локальных популяций. Данные о генетическом разнообразии *N. schikhobalowi* – представителя эпидемиологически значимой эндемичной паразитофауны Дальнего Востока России – могут быть использованы при разработке методов генотипирования возбудителей нанофиетоза у животных и человека, а также для создания качественно новых противогельминтных препаратов. На основе выявленной специфичности укладки доменов ES6^S и ES9^S 18S рРНК у трематод могут быть разработаны эффективные ДНК-штрихкоды. Экспериментальные подходы, использованные соискателем, могут быть применены для описания популяционно-генетической структуры видов трематод, паразитирующих у лососевых рыб, и при изучении связи между степенью инвазивности паразита и структурной организацией его генома.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что в работе использованы современные молекулярно-генетические методы определения нуклеотидных последовательностей и многочисленные методы обработки полученных данных, соответствующие поставленным задачам. Корректные алгоритмы и программное обеспечение для реконструкции филогенетических деревьев, генеалогических сетей гаплотипов, анализа демографической истории популяций, а также высокоэффективные биоинформатические подходы и программы для моделирования вторичных и третичных структур биомолекул обеспечивают воспроизводимость результатов. Достоверность результатов не вызывает сомнений благодаря значительному объему выборки (77 экземпляров трематод рода *Nanophyetus* из 7 популяций) и нуклеотидных последовательностей ДНК, полученных как в ходе работы (133), так и из базы GenBank (257). В работе использованы современные сертифицированные устройства для проведения полимеразной цепной реакции и получения первичных последовательностей ДНК от ведущих

производителей научного оборудования (Applied Biosystems и Bio-Rad Inc., США; Eppendorf, Германия).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования: анализе литературных данных, планировании экспериментальной работы, получении, анализе и интерпретации экспериментальных данных, подготовке публикаций по теме диссертации и апробации результатов исследования.

На заседании 4 декабря 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Вороновой Анастасии Николаевне ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **15** человек, из них **6** докторов наук по специальности 03.02.07 – генетика, участвовавших в заседании, из **22** человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту **0** человек, проголосовали: за **15**, против **0**, недействительных бюллетеней **0**.

Председатель диссертационного
совета, академик РАН

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Адрианов
Андрей
Владимирович
Ващенко
Марина
Александровна

04 декабря 2018 г.