

Отзыв оппонента на диссертацию Сурковой Светланы Юрьевны «Анализ динамики и вариабельности экспрессии генов сегментации у дрозофилы», представленную на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика».

Классический генетический подход заключается в том, чтобы нарушить определенную функцию с помощью мутаций, а затем, используя их взаимодействия, установить порядок их действия. Рассматриваемое исследование базируется на использовании ранее найденных мутаций нарушающих эмбриогенез, но подход другой - проведении очень точного картирования паттернов экспрессии генов сегментации на карте эмбриона и на этой основе получении сведений о характере интерпретации позиционной информации расположенной на бластодерме. Более точно целью работы было изучение вариабельности и характера действия мутаций генов группы *gap* на вариабельность паттернов экспрессии генов сегментации дрозофилы.

Обзор литературы содержит данные по общей организации раннего эмбриогенеза дрозофилы, очередности экспрессии координатных генов, генов *gap*, генов *pair-rule*, и генов сегментной полярности. Есть специальный раздел, в котором рассматриваются свойства мутаций *Kr* и *kni*. Подробно изложено различие концепций позиционной информации и морфогенетического поля. Имеется также специальный раздел по проблеме устойчивости эмбрионального развития.

Как описано в разделе **Материалы и Методы** для определения возраста сканируемых эмбрионов использовался «опорный» паттерн распределения белка Eve. Для того чтобы этот паттерн можно было использовать, было предпринято специальное исследование в котором возраст эмбриона определялся независимым образом и была установлена связь особенностей паттерна Eve со стадией эмбрионального развития. Важным компонентом высокоточных измерений является вычитание фонового сигнала. Для решения этой задачи автор использовал аппроксимацию фонового сигнала от неэкспрессирующих областей, а затем вычитал соответствующие значения из значений уровня флуоресценции экспрессирующих областей.

Заметим, что такая процедура, по-существу, корректирует сигнал не только в плане учета геометрии эмбриона, но также и оптические несовершенства оптической схемы микроскопа. Для стандартизации распределений белков автором предложена специальная процедура сегментации эмбриона и построения ядерной маски. Т.о. методы, использованные в работе, являются уникальными, специально разработанными для решения поставленной задачи.

Количественный анализ паттернов экспрессии зиготических генов в норме и при действии мутаций *Kr* и *kni* показал, что сдвиги полос экспрессии происходят в задней части эмбриона, эти области экспрессии движутся в переднем направлении, сдвиги сужают области экспрессии за счет сдвига задней границы. Несмотря на то, что мутации приводят к значительным изменениям уровней экспрессии, они не приводят к изменению характера считывания позиционной информации (**Вывод-1**).

В работе (Jaeger, 2011) приводятся результаты, показывающие, что взаимодействия между *gap* генами носят характер репрессии. Выполненное автором сравнение экспрессии *gap* генов для нормальных и мутантных эмбрионов (*Kr*, *kni* и *Kr; kni*), показало, что в случае мутантных форм, экспрессия других генов *gap*, снижается, в то время как можно было ожидать обратного эффекта. Этот результат соответствует **Выводу 2** диссертации.

Наиболее интересной частью работы, являются результаты по "канализации" динамики паттернов экспрессии генов в развитии эмбриона (**Выводы 3-5**). В работе экспрессия генов характеризуется количественно, и именно этот методический базис работы позволяет решать задачу о сравнении вариабельности паттернов экспрессии в норме и у мутантов. Автор показывает, что полосы экспрессии генов сегментации могут образовываться в разной последовательности, но к началу гаструляции образуется одинаковый паттерн. Аналогично, вариабельность интенсивности экспрессии генов в полосах и геометрия полос также снижаются.

Повышение вариабельности картин экспрессии генов раннего развития под действием мутаций генов группы *gap* было продемонстрировано двумя группами фактов. Мутации по *Kr*

и *kni* повышают уровень вариабельности экспрессии генов в разных участках эмбриона. У мутантов по гену *Kr* вариабельность экспрессии pair-rule генов не снижается до нормы в области экспрессии гена *Kr*.

Полученные результаты подтверждают концепцию Уоддингтона о последовательном уменьшении вариабельности экспрессии генов в развитии, в этом состоит **теоретическая ценность** полученных результатов. **Практическая ценность** работы заключается в том, что на основе полученных данных была уточнена временная и пространственная карты экспрессии генов раннего развития у эмбрионов, размещенная в базе данных FlyEx. Полученные данные также используются в учебном процессе не только для биологических дисциплин биологии, но и в некоторых других областях знания. В дополнение к сказанному о теоретической и практической ценности необходимо добавить, что существуют еще и другие аспекты. Работа в целом основана на "борьбе" за повышение точности измерений. Именно точность дала возможность получить результат. Т.о. в работе, в дополнение к конкретным полученным результатам, демонстрируется, что если повысить точность измерений, то можно увидеть новые явления или лучше понять известные. В этом тоже есть элемент как **теоретической**, так и **практической** ценности.

В диссертации и автореферате автор полагает, что **актуальность** проведенной работы состоит в том, что она направлена на решение актуальных задач - на то, как считывается позиционная информация и как изменяется вариабельность паттернов экспрессии в развитии. Да, это действительно так. В дополнение замечу, что проведенная работа дает пример полезности проведения высокоточных измерений в биологии. Возможно, что успешное решение этого вопроса является не менее **актуальным**.

В работе имеется много элементов **научной новизны**. Прежде всего, это методики, разработанные для высокоточных измерений. То, что полученные данные интегрированы в базу данных по экспрессии генов у дрозофилы показывает, что полученные данные являются новыми.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. По материалам диссертации имеется 14 печатных работы в рецензируемых изданиях, среди которых имеются самые высоко-рейтинговые научные издания. Эти публикации **полно** отражают результаты диссертации. Автореферат **соответствует** содержанию текста диссертации. Рассматриваемая работа в целом носит **законченный** характер. **Личный вклад** автора в работу является определяющим.

Замечание по диссертации состоит в том, что изложение результатов структурировано по времени развития эмбриона. Такое построение требует дополнительных усилий для того чтобы установить связь полученных результатов с выводами работы.

Если выбирать между двумя альтернативами - обнаружено ли в диссертации новое явление или она посвящена решению классической задачи, то определенно нужно выбрать второй вариант. Методически диссертация была изначально нацелена на проведение таких измерений, которые позволили бы проверить концепцию Уоддингтона в в наиболее благоприятной для исследования ситуации - раннем эмбриогенезе, где все "участники" событий известны.

На основе проведенного рассмотрения текста диссертации, оцениваю диссертацию положительно, как определенно соответствующую требованиям ВАК к кандидатской диссертации. Считаю, что квалификация Сурковой Светланы Юрьевны определенно соответствует уровню кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика».

Омельянчук Л.В. Д.б.н., зав. Лабораторией
Клеточного цикла Института молекулярной
и клеточной биологии СО РАН,
Новосибирск 630090, Лаврентьева 8/2,
ome@mcb.nsc.ru

