

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Сурковой Светланы Юрьевны

«Анализ динамики и вариабельности экспрессии генов сегментации у эмбрионов дрозофилы дикого типа и мутантных по генам *gap*», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Фундаментальная проблема, которая легла в основу настоящей диссертации, была сформулирована задолго до появления современных высокоточных методов анализа биологических процессов. Согласно концепции Конрада Уоддингтона, выдвинутой в начале прошлого века, процессы развития, протекающие в норме, обладают генетической буферностью, то есть устойчивостью к внешним и внутренним нарушениям. В отличие от мутантных организмов, организмы дикого типа «умеют» компенсировать фенотипическую вариабельность, что приводит к эквивалентности траекторий развития. В диссертации Светланы Юрьевны Сурковой путём количественной оценки продуктов генов *gap* и *pair-rule* в системе сегментационного каскада *Drosophila*, доказана состоятельность этой концепции. Исследование проводилось на эмбрионах дикого типа (Oregon-R) и мутантных эмбрионах из линий, несущих мутации по *gap*-генам *Kr* (*Kruppel*) и *Kni* (*Knirps*), а также на эмбрионах, несущих обе мутации.

Рациональный и высокотехнологичный подход к выбору методов, использованных для анализа проблемы, указывает на высокий профессионализм диссертанта. В ходе исследования Суркова С.Ю. самостоятельно получила экспериментальные данные о 8-ми сегментационных генах у 326 мутантов и гетерозигот по гену *Kr*. Часть данных была предоставлена автору коллегами, для самостоятельного обобщения. В работе использовался специально разработанный алгоритм анализа конфокальных изображений и методика детального стадирования эмбрионов. Масштаб работы таков, что с пространственным разрешением в одно ядро и временным интервалом в 6,5 минуты (для цикла 14A), получены подробнейшие данные о динамике экспрессии всех основных участников сегментационного каскада (за исключением генов сегментной полярности), как в норме, так и в случае *gap*-мутантов.

Данные, представленные к защите, говорят о том, что позиционная информация, присутствующая в виде градиентов материнских факторов в раннем эмбрионе, проходит этап динамической интерпретации как генами *gap*, так и *pair-rule*-генами. Важно, что значительная вариабельность в распределении *gap*- и *pair-rule*-белков быстро падает к концу

14 цикла, что приводит к формированию чёткого, регулярного паттерна, универсального для всей выборки животных дикого типа. Напротив, у двойных и, отчасти, у одиночных мутантов по *gap*-генам, вариабельность паттернов не снижается, и нормальный регулярный паттерн *pair-rule*-генов не формируется, что вызывает, в конечном счёте, множественные и вариабельные нарушения сегментации у поздних эмбрионов и личинок.

В диссертации высказана интересная гипотеза, согласно которой динамический, широко варьирующий паттерн распределения некоторых *pair-rule*-белков у эмбрионов, мутантных по *Kr* и *Kni*, обусловлен элементами анцестральной генетической программы, которая вышла из-под контроля *up stream*-факторов (*gap*-белков в данном случае). Эта программа существует у насекомых и других членистоногих с короткой зародышевой полоской. Они формируют сегменты последовательно, а не одновременно, и не используют *gap*-гены в детерминации сегментных территорий. Осциллирующий паттерн сегментационных генов у жука *Tribolium* (Sarrazin A.F. et al., 2012; El-Sherif et al., 2012) и многоножки *Strigamia* (Carlo Brena and Michael Akam., 2013) указывает на правомерность этой гипотезы.

Интересно, что в работе не подтвердилось устоявшееся мнение, будто *gap*-белки, по преимуществу, взаимные репрессоры. Нуль-мутанты по *Kr* и *Kni* демонстрируют общее снижение уровней экспрессии большинства *gap*-генов. В связи с этим хотелось бы узнать, насколько, по мнению автора, экспрессионная динамика *gap*- и *pair-rule*-генов у мутантных эмбрионов, использованных в работе, соотносится с теми представлениями об устройстве генной регуляторной сети, которые сложились в последние годы на основании сиквенсов *cis*-регуляторных сайтов сегментационных генов и их мутационного анализа.

Рукопись представлена на 141 странице и состоит из следующих разделов: введения, списка обозначений и сокращений, 5-ти глав, заключения, выводов, списка литературы и списка публикаций по теме диссертации. Список литературы содержит ссылки на 148 источников, в том на научные работы соискателя по теме диссертации, что полностью соответствует положению о порядке присуждения учёных степеней (в редакции Постановления Правительства РФ от 20.06.2011 № 475). По теме исследования опубликованы 14 статей в рецензируемых российских и международных периодических изданиях, индексируемых наукометрическими базами РИНЦ, WoS и Scopus. Отдельно хочется отметить, что в числе публикаций автора есть статьи в таких авторитетных для научного сообщества журналах, как *Nature*, *Developmental Biology* и *PLoS*. Результаты диссертации неоднократно апробированы на международных и всероссийских конференциях.

В тексте диссертации практически отсутствуют опечатки и стилистические погрешности. Работа очень аккуратно оформлена, в ней 28 рисунков и 11 таблиц. Огорчает небольшой размер рисунков и графиков. В некоторых случаях прямое указание о временном классе уместно писать прямо на графике, а не в подписях к рисунку – это упрощает восприятие материала. Заключение в конце каждой из глав, посвящённых результатам исследования (главы 4 и 5), стоило бы сопроводить общими итоговыми схемами.

В целом, перед нами большая, добротная, методически сложная работа. Её результаты выглядят достоверными и, что немаловажно, закладывают хороший фундамент для корректных вопросов и дальнейших экспериментов, которые помогут выявить подлинную структуру генных регуляторных сетей такого сложного процесса, как регионализация раннего эмбриона. Диссертация Сурковой С.Ю. показывает, что локальная научная задача - изучение пространственной и временной динамики процессов сегментации у *Drosophila*, может, при грамотном и последовательном решении, выявить самые базовые закономерности процессов развития и прояснить их физическую природу.

Выводы диссертационной работы адекватны полученным результатам. Положения, выносимые на защиту, подтверждаются экспериментальными данными. Диссертационная работа С.Ю.Сурковой является законченной научно-квалификационной работой. Она соответствует всем требованиям п.9 абзац 2 «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук»



3 сентября 2014 года

Старший научный сотрудник кафедры эмбриологии

Биолого-почвенного факультета СПбГУ,

зав. лаб. экспериментальной

эмбриологии, к.б.н. Кулакова М.А.