

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский
государственный университет»

С.В. Микушев

2025 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» на диссертацию Тишаковой Катерины Валерьевны «ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ У ИГУАНООБРАЗНЫХ И ГЕККОНООБРАЗНЫХ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика.

Работа Катерины Валерьевны Тишаковой посвящена исследованию последовательностей, входящих в состав половых хромосом у игуанообразных и гекконообразных рептилий.

Актуальность темы выполненной работы

Половые хромосомы – это элементы генома, играющие первостепенную роль в определении пола. Появление и преобразование половых хромосом имеет важные эволюционные последствия, поскольку связано с возникновением полового диморфизма, полового антагонизма, генетического конфликта, т.е. видообразованием. Несмотря на свое биологическое значение, структура, функция и состав половых хромосом плохо изучены, за исключением нескольких модельных видов. Большая часть информации о половых хромосомах получена при изучении млекопитающих и дрозофилы – объектов с чрезвычайно вырожденными Y-хромосомами, которые нетипичны для других видов. Многие виды животных имеют морфологически схожие, гомоморфные, половые хромосомы, или кариотипы с невырожденными Y или W хромосомами. Даже несмотря на то, что все большее число геномов секвенируется, половые хромосомы остаются недостаточно изученными из-за трудностей сборки районов, насыщенных повторяющимися последовательностями, которые накапливаются из-за подавленной рекомбинации вблизи локуса, определяющего пол. Действительно, в большинстве геномных проектов для секвенирования используется ДНК гомогаметных особей (XX или ZZ), чтобы облегчить расшифровку. Результатом является то, что наши знания о происхождении и эволюции гетероморфных половых хромосом сильно отстают от знаний о других районах генома. Для полного понимания эволюционных закономерностей преобразования половых хромосом, необходимы исследования

разнообразных объектов, с разнообразными половыми хромосомами. С этой точки зрения, представленная работа, в которой исследован состав половых хромосом четырех видов чешуйчатых рептилий, актуальна. Некоторые из последовательностей сателлитной ДНК, описанные в данной работе, могут быть использованы в качестве маркеров для идентификации отдельных пар хромосом у других видов рептилий, что также актуально в вопросе исследования биоразнообразия состава половых хромосом.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором исследован состав половых хромосом у заборной малахитовой игуаны (*Sceloporus malachiticus*), йеменского хамелеона (*Chamaeleo calypttratus*), юкатанского полосатого геккона (*Coleonyx elegans*) и центральноамериканского геккона (*C. mitratus*). Выявлены последовательности наиболее распространенной сателлитной ДНК, определена их хромосомная локализация, идентифицированы повторы, которые являются специфичными для половых хромосом. В кариотипе йеменского хамелеона впервые определена предполагаемая пара гомоморфных половых хромосом, по всей видимости, недавно эволюционировавших. По результатам диссертации сформулировано шесть доказанных выводов, в которых излагаются новые для генетики положения.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Теоретическая значимость работы состоит в том, что полученные результаты расширяют знания о структуре половых хромосом у чешуйчатых рептилий. Новые сведения могут быть использованы в вузовских курсах по генетике, цитогенетике, эволюции для студентов-биологов. Некоторые из ДНК-маркеров, описанные в данной работе, могут быть использованы для идентификации отдельных пар хромосом других видов рептилий. Результаты работы могут быть использованы для сборки или уточнения сборки геномов исследованных видов.

Личный вклад автора

Результаты экспериментальных и теоретических исследований, представленные в диссертации, получены лично автором или при его непосредственном участии. Катерина Валерьевна участвовала во всех лабораторных исследованиях, в том числе: в получении и культивировании клеточных культур, приготовлении препаратов хромосом, получении ДНК-библиотек, последовательностей сателлитной ДНК, проведении FISH, выделении ДНК из тканей и клеточных культур. Автор выполнила микроскопирование препаратов, обработку и анализ цитогенетических и биоинформатических данных. Это подтверждается статьями, в которых Катерина Валерьевна является первым автором или соавтором. Всего по теме диссертации автором опубликовано 3 статьи в рецензируемых журналах. Различные разделы диссертации докладывались на российских и международной конференциях.

Структура работы

Работа написана по классическому плану и содержит разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список цитируемой литературы», изложена на 119 страницах. Разделы разбиты на главы, что облегчает восприятие. Введение разбито на рубрики, в которых в соответствии с требованиями ВАК обсуждаются вопросы актуальности работы, цели и задачи, новизна и вклад автора, а также другие важные показатели научной работы. Здесь

представлены два защищаемых положения, которые также отвечают требованиям ВАК по новизне и обоснованности фактическим материалом. Диссертация написана в хорошем стиле, понятным русским языком. Текст грамматически и стилистически выверен, опечатки отсутствуют. В работе содержится 16 рисунков, часть приводимой информации структурирована в 11 таблицах. Иллюстративный материал самого высокого качества, приведенные схемы и филогенетические деревья облегчают понимание текста. Подписи к рисункам очень подробные, даны пояснения для использованных обозначений. Имеется три приложения. Результаты, полученные в работе, тщательное их представление и описание показывают высокий уровень научной подготовки К.В. Тишаковой. Приведенные в тексте ссылки оформлены с большим вниманием, список литературы тщательно выверен. К структуре работы замечаний нет.

Название диссертационного исследования отражает ее содержание, хотя слово «генетический» и кажется излишним.

Во «Введении» излагаются общие вопросы: актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, практическая ценность, выносимые на защиту положения, апробация работы, структура и объем диссертации, приводится число публикаций (опубликованы 3 статьи).

Глава «Обзор литературы» начинается с описания существующего разнообразия систем определения пола, состава и эволюции половых хромосом животных, в основном позвоночных. Далее следует изложение представления о генах, определяющих пол, рассматривается вопрос о механизме деградации одного из гомологов в паре половых хромосом. Очень удачно, что автор посвящает целую главу (гл. 5) методам идентификации и исследования половых хромосом. Ожидаемо, что отдельно рассмотрена существующая литература по исследованиям геномов и кариотипов рептилий (гл. 6) (в т.ч. игуанообразных (гл. 6.1) и гекконообразных (гл. 6.2)), включая работы по механизмам определения пола у этих животных. Текст выстроен логично, приведены адекватные ссылки, написан понятным, грамотным языком. Обширный обзор литературы завершается разделом «Заключение по обзору литературы» (гл. 7), который систематизирует изложенную информацию и придает разделу логическую завершенность. В нем подчеркивается, что эволюция половых хромосом – один из наиболее динамичных процессов в геномах эукариот, но его механизмы остаются недостаточно изученными. Автор акцентирует внимание читателя на этом аспекте и формулирует ключевой вопрос, который предстоит решить в диссертации: является ли вовлечение одних и тех же синтенных групп в формирование половых хромосом случайным процессом или же оно обусловлено наличием специфических генов? В качестве перспективных объектов исследования рассматриваются инфраотряды игуанообразных и гекконообразных, характеризующиеся разнообразием систем определения пола и различной степенью вырожденности половых хромосом.

Раздел «Материалы и методы исследований» впечатляет числом использованных методик. Описание методов приведено очень подробно и может быть использовано в качестве рабочих протоколов профессиональным сообществом. Список использованных в работе реактивов, культуральных сред и проч. материалов можно использовать в качестве справочника при подготовке эксперимента (Приложение 1). Единственный вопрос: было ли получено разрешение этического комитета на забор особей заборной малахитовой игуаны и центральноамериканского геккона?

Далее следует описание *результатов* экспериментов (раздел 3). Был выполнен цитогенетический анализ кариотипа заборной малахитовой игуаны (получен проточный кариотип, проведена локализация зондов, полученных на основе ДНК-библиотек, сделано С-окрашивание, проанализированы данные секвенирования ДНК-библиотек). В результате сделан вывод о том, что большинство макрохромосом заборной малахитовой игуаны соответствуют таковым у анолиса (кроме участков SMA2 и SMA6), а большинство микрохромосом были образованы в результате слияния как минимум двух пар предковых микрохромосом. Для X-хромосомы заборной малахитовой игуаны показаны несколько слияний, а для Y-хромосомы идентифицирован специфический сателлит.

Приблизительно по той же схеме было построено исследование кариотипа йеменского хамелеона (раздел 3.2). Сравнение последовательностей хромосом *C. calyptratus* с референсными геномами каролинского анолиса и плоскорогой жабовидной ящерицы выявило два слияния микрохромосом и четыре слияния макрохромосом с микрохромосомами. Для определения половых хромосом в кариотипе йеменского хамелеона автором было использовано ПЦР-ассоциированное картирование ранее описанных Y-специфичных RAD-seq маркеров и показано, что половыми по всей видимости является 5 пара хромосом. Специфичных для половых хромосом сателлитов не выявлено, все исследованные tandemные повторы локализованы на разных аутосомах.

Проведено цитогенетическое сравнение половых хромосом юкатанского полосатого и центральноамериканского гекконов (раздел 3.3). Скрупулезная работа была проведена по изучению 14 (!) идентифицированных сателлитов на хромосомах *C. mitratus*. Но к сожалению для цели настоящей работы, только одна последовательность оказалась специфичной для X- и Y-хромосом. Это еще раз показывает, насколько сложно исследовать состав половых хромосом немодельных видов.

Результаты корректно *обсуждаются* в разделе 4. Рассуждая, автор приходит к выводу, что синтенные группы генов, вовлеченные в формирование половых хромосом у четырех исследованных видов, часто встречаются в составе половых хромосом у многих видов чешуйчатых рептилий. Т.е. в ходе эволюции половых хромосом у представителей данного таксона происходит конвергентное использование одних и тех же групп сцепления. Анализ сателлитных последовательностей к геномам изученных рептилий позволяет сформулировать наблюдение, что для вырождающихся половых хромосом заборной малахитовой игуаны и центральноамериканского геккона характерна сложная организация сателлитной ДНК в гетерохроматиновых районах вырождающихся гомологов, при этом большинство обнаруженных последовательностей сатДНК не являются специфичными для половых хромосом и могут входить в состав аутосом. В то же время, предполагаемые половые хромосомы йеменского хамелеона характеризуются отсутствием видимого накопления сатДНК, что подтверждает предположение об их низкой степени гетерохроматинизации. Высказанные гипотезы просуммированы в «*Заключении*» (раздел 5). Выводы, предложенные автором, хорошо сформулированы, согласуются с поставленными задачами и логично вытекают из полученных данных.

Заключение

Диссертационная работа Катерины Валерьевны Тишаковой на тему «Генетический состав половых хромосом у игуанообразных и гекконообразных» является завершённое

научно-квалификационное исследование, соответствующее поставленным задачам. В работе получены новые данные о составе половых хромосом четырех видов чешуйчатых рептилий, определены синтенные группы генов, участвующие в их формировании, выявлены последовательности наиболее распространенной сателлитной ДНК и идентифицированы повторы, специфичные для некоторых половых хромосом. Исследование отличается тщательностью, высоким уровнем проработки материала, научной новизной и применением современных методов молекулярной и цитогенетики. Полученные результаты значимы для понимания эволюции половых хромосом у чешуйчатых рептилий и могут быть использованы в дальнейших исследованиях генетики пола.

В автореферате диссертации и в публикациях К.В. Тишаковой адекватно и в достаточной для понимания форме изложено содержание диссертации. Имеющиеся в автореферате рисунки отличного качества.

Диссертационная работа К.В. Тишаковой полностью удовлетворяет требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (ред. от 11.09.2021), предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 1.5.7 – Генетика. К.В. Тишакова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Отзыв ведущей организации подготовлен кандидатом биологических наук Светланой Анатольевной Галкиной. Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» 20.02.2025 г., протокол № 4.

Согласны на обработку персональных данных, необходимую при размещении отзыва в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет».

Доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий кафедрой генетики и биотехнологии СПбГУ

Нижников Антон Александрович

Кандидат биологических наук по специальности 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология, доцент кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ

Галкина Светлана Анатольевна

Подписи заверяю:



А. А. Нижникове, С. А. Галкиной

В. В. Мухоморова, О. С. Вишнева

Вишнева О.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Адрес: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9

Тел.: (812) 328-97-01

E-mail: spbu@spbu.ru