

ОТЗЫВ

официального оппонента ГАЛКИНОЙ Светланы Анатольевны на диссертацию СОБОЛЕВОЙ Евгении Сергеевны «Молекулярно-генетический анализ точек разрывов фиксированных и полиморфных инверсий в X хромосоме малярийного комара *Anopheles messeae*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - генетика

Проблема парацентрических инверсий, которой в широком смысле посвящено диссертационное исследование Е.С. Соболевой, относится к числу наиболее интересных вопросов современной цитогенетики и эволюционной генетики. В гетерозиготном состоянии парацентрические инверсии могут способствовать сохранению определенных сочетаний аллелей, препятствуя их разрушению в результате кроссинговера. Отбор может поддерживать высокий уровень инверсионного полиморфизма в популяции, сохраняя благоприятные сочетания аллелей, и, возможно, усиливая их за счет гетерозиса. Однако у видов, для которых характерен кроссинговер и в мужском мейозе (к которым относится и малярийный комар), у гетерозигот по парацентрической инверсии рекомбинация внутри инвертированного участка может приводить к образованию дицентриков и ацентрических фрагментов, что снижает долю функциональных гамет и ограничивает распространение инверсий. Роль парацентрических инверсий двояка: в гетерозиготном состоянии они берегут комбинации аллелей, а при фиксации в популяции становятся источником кариотипических различий и разделяют эволюционные линии.

Уже около ста лет исследователи стремятся понять, как формируются такие комплексы аллелей, какие гены в них входят и каково их значение для адаптации и эволюции видов. По-прежнему актуальны два вопроса: как возникают сами инверсии и обладают ли их точки разрыва особыми свойствами? Какие гены и комплексы аллелей заключают инвертированные участки? Моделью для ответа на эти вопросы в данной диссертации стала X-хромосома видов *Anopheles messeae* и *An. daciae* — молодой эволюционной ветви подгруппы *Maculipennis*, несущая как фиксированные, так и полиморфные инверсии. Выбор объекта не случаен: у малярийных комаров рода *Anopheles* инверсионный полиморфизм связан с экологически и эпидемиологически значимыми признаками, что придает таким исследованиям не только фундаментальное, но и прикладное значение.

Работа выполнена на стыке цитогенетики, молекулярной генетики и биоинформатики с использованием современных подходов: двухцветной

флуоресцентной гибридизации *in situ* на политенных хромосомах, картирования ДНК-маркеров на референсной сборке генома *An. atroparvus*, анализа мобильных генетических элементов и геной онтологии. Полученные результаты опубликованы в рецензируемых научных журналах и апробированы на конференциях различного уровня. На разработанный программный инструмент GIC получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Е. С. Соболевой лично разработан метод итеративного картирования районов точек разрыва, самостоятельно проведены эксперименты по дизайну зондов для FISH, выполнено физическое картирование и реконструкция эволюции X-хромосомы, в том числе с использованием созданного ею программного обеспечения.

Работа оставляет впечатление хорошо сделанного исследования. В целом работа написана аккуратно, текст по большей части выверен. Обзор литературы подробный и в целом логично выстроен (терминологическое замечание: в оглавлении глава названа «Литературный обзор» — корректнее «Обзор литературы»; там же, на стр. 61, — «литературные данные» вместо «данные литературы»). Классификация рода *Anopheles* разобрана настолько детально, что этот раздел можно использовать как справочный. Вместе с тем к тексту есть ряд претензий, преимущественно редакционного и уточняющего характера.

Первая группа — категоричные обобщения без количественных данных или ссылок, придающие тексту голословность, что для научного текста нежелательно. Так, фраза «Благодаря созданию микроскопа уже более века у человека есть возможность визуализировать крупные хромосомные перестройки» (стр. 14) создает впечатление, будто микроскоп создан в прошлом веке. Утверждение, что «ни одна из перечисленных перестроек не оказывает столь сильного влияния на эволюцию геномов животных, как инверсия» (стр. 14), опровергается хотя бы частотой робертсоновских транслокаций у млекопитающих. Обобщения «большинство организмов обладают системой переключения программы развития эмбриона» и «такая система встречается у большинства видов животных» (стр. 24) требуют либо количественных оценок, либо более осторожной формулировки. Фразы «виды можно отнести к высокополиморфным», «только три вида подгруппы считаются высокополиморфными» (стр. 47–48, 56) стилистически неверны — речь должна идти о высокой изменчивости кариотипов этих видов.

Вторая группа — фактические неточности. Из текста на стр. 16 следует, что инверсия «на 100 % запирает» кроссинговер. Точнее было бы сказать, что

само событие кроссинговера в инвертированном участке возможно (в центральной части инверсионной петли, где гомологи спарены полноценно), однако его продукты (дицентрик и ацентрический фрагмент в случае парацентрической инверсии) элиминируются, поэтому рекомбинанты внутри инверсии в потомстве практически не выявляются. Вблизи же точек разрыва из-за неполного спаривания гомологов снижена уже частота самих событий рекомбинации. «Половое размножение обеспечивает преемственность наследственной информации от родителей потомкам» (стр. 24) — ее обеспечивает и бесполое размножение. Для систем определения пола (стр. 24–25) чаще используются универсальные обозначения XY и XO наряду с Ligeaus- и Protenor-типами; кроме того, Protenor-тип (XO) встречается не только «среди некоторых насекомых и червей», он описан у рыб и у млекопитающих (слепушонки *Ellobius*, колючие мыши *Tokudaia*). Утверждение, что у животных с системой ZW «таким геном является *DMRT1*» (стр. 30), справедливо только для птиц: у рептилий, амфибий и рыб с ZW-системой описаны иные гены-кандидаты, и универсального «мастер-гена» для всех ZW-систем не установлено. Стоит упомянуть и фрагмент о мозаичном эффекте положения (стр. 19): фраза «за последние 25 лет эта гипотеза не получила дальнейшей поддержки со стороны научного большинства; современных исследований не было найдено» неясна, особенно на фоне данных, например, о *Su(var)3-9*. Иногда встречаются и казусные по тональности формулировки. Стилистика абзаца о Y-дегенерации («процесс остается незавершенным...», стр. 32) производит впечатление, что автор сильно сожалеет о его незавершенности.

Наконец, из обзора не складывается представления о современных гипотезах адаптивного действия инверсий. Например, утверждая вовлеченность инверсии в адаптацию к более холодным температурным режимам (стр. 50), стоило бы сказать, что известно о генах в инверсионном районе и как их функционирование может сказываться на адаптации. В нынешнем виде картирование инверсий у разных видов обсуждается преимущественно как филогенетический маркер родства, а адаптивная составляющая остается декларативной.

Глава «Материалы и методы» написана очень добросовестно. Предложенное автором итеративное картирование решает реальную проблему: как локализовать точки разрыва перестроек у организма, для которого геномной сборки просто нет. Автор допускает неточность, называя использованный фиксатор Кларка фиксатором Карнуа, который на самом деле состоит из трех компонентов (метанол, ледяная уксусная кислота и хлороформ). Неточна и

фраза на стр. 61. «Видовая идентификация проводилась путем анализа длин амплифицированных фрагментов ITS2 с помощью классической ПЦР»: длину фрагментов оценивают электрофоретически; сама по себе ПЦР длину не определяет. В разделе 2.2.5. желательно было бы указать, какая матрица использовалась для синтеза зондов и какие зонды были получены. Из прочтения раздела 2.3.3 осталось непонятным, почему при постановке FISH зонды и ДНК хромосом денатурируют дважды – сначала по отдельности, а потом совместно, в гибридайзере.

В «Результатах» автор приводит данные по координатам районов, содержащих точки разрыва фиксированных и полиморфных инверсий X-хромосомы *An. messeae* и *An. Daciae*, что позволяет уточнить схему хромосомной эволюции подгруппы *Maculipennis* и показать, что исходным вариантом для ветви *An. messeae* s.l. был X1, а не X0, как предполагалось ранее. Отмечу и созданный автором программный инструмент GIC для реконструкции последовательности событий хромосомных перестроек. Этот раздел изложен очень подробно, хорошо проиллюстрирован (в текст также включены 4 приложения), что несомненно является достоинством работы. Разрешение картирования районов точек разрыва полиморфных инверсий существенно различается: от 8,5 тыс. п.н. до 171,5 тыс. п.н. для дистальной точки разрыва X0. Было бы желательно оценить, как такое разрешение влияет на надежность выводов о взаимном расположении точек разрыва.

Все координаты районов точек разрыва получены на референсной сборке *An. atroparvus* (гомеологичных участках), а не на сборках геномов *An. messeae* и *An. daciae*, которые пока отсутствуют. Выводы о «горячих точках» разрывов и повторном использовании точек разрыва носят предварительный характер; желательно было акцентировать это и в выводах.

Программный инструмент GIC заявлен как средство реконструкции последовательности событий перестроек, однако его валидация и сравнение с другими методами реконструкции инверсий в тексте не описаны. Могут ли быть приведены хотя бы тестовые примеры, подтверждающие корректность работы программы?

Выводы по диссертации приведены в главе «Заключение». Отмечу, что вывод 3 сформулирован шире полученных данных: обогащение ДНК-транспозонами показано для трех из четырех районов точек разрыва, тогда как BRI мобильных элементов не содержит, в его составе выявлено много простых повторов. Вывод 4 опирается на анализ геномной онтологии, значимость которого не подтверждается поправкой Бонферрони; сам автор в обсуждении (стр. 91)

Все перечисленные замечания носят преимущественно редакционный и уточняющий характер и не затрагивают методологическую основу работы, а также не умаляют полученных результатов. Диссертация Соболевой Евгении Сергеевны «Молекулярно-генетический анализ точек разрывов фиксированных и полиморфных инверсий в X хромосоме малярийного комара *Anopheles messeae*» является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему и обладающей научной новизной. Работа соответствует паспорту научной специальности 1.5.7 - генетика, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Кандидат биологических наук по специальности 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология, доцент кафедры генетики и биотехнологии им. М.Е. Лобашева биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

C. Lacey

28.09.2026

Тел.: 7(812)3636039, e-mail: svetlana.galkina@spbu.ru

199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9

Тел.: 7(812) 328-97-01

E-mail: spbu@spbu.ru

Галкиной С.А.

ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ
М. С. ЗУБОВА

Q209 K26

