

Отзыв

На автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Жуковой Алины Александровны «**Генетический полиморфизм трематод рода *Leucochloridium***».

Класс трематоды объединяет несколько тысяч видов, составляющих более 2500 родов, и наличие среди трематод опасных паразитов человека привлекает большой интерес к изучению этих гельминтов. Автор отмечает, что классификация этих организмов представляет существенные трудности. В настоящий момент существуют две системы классификации, основанные на морфологических характеристиках. Для улучшения обеих систем и устранения несоответствий между ними оправдано применение молекулярно-генетических методов. Однако, исследований с их применением для дигеней относительно немного. Полные последовательности ядерных геномов двух представителей данного класса были расшифрованы только в 2009 г. В настоящее время имеются немногочисленные работы, которые содержат результаты генотипирования рДНК трематод рода *Leucochloridium*. Представленные в публикациях нуклеотидные последовательности кластера рибосомных генов *Leucochloridium paradoxum* и *L. perturbatum*, зарегистрированы в GenBank, но не являются полноразмерными. Сведения о последовательностях рДНК *L. vogtianum* отсутствуют.

В связи со сказанным выше, цель работы – **изучение внутриродового генетического полиморфизма спороцист трематод рода *Leucochloridium*** актуальна и представляет существенный интерес.

Материалы и методы описаны достаточно подробно для того, чтобы сделать вывод об их соответствии поставленным задачам. Используемые в работе методы хорошо подходят для решения поставленных в работе задач. Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью, а секвенирование при помощи современных приборов и наборов реактивов обеспечивает высокую надежность получаемых результатов. Полимеразный анализ со случайными праймерами (RAPD-анализ) также хорошо подходит для начального генотипирования организмов, последовательность генома которых неизвестна. Не будучи специалистом в биологии беспозвоночных, оценить работу с экспериментальными животными автор отзыва не в состоянии.

Все представленные в работе результаты являются новыми. Впервые получены участки рДНК трематод нескольких видов, которые аннотированы в GenBank и доступны для сравнения. Выявлены отношения видов трематод *Leucochloridium* внутри рода, а также установлено систематическое положение семейства *Leucochloridiidae*. Полученные результаты описаны достаточно полно и исчерпывающе. Общее описание спороцист выполнено подробно, межвидовые различия тщательно обсуждаются. Описаны результаты анализа ДНК трематод р. *Leucochloridium* с помощью случайных праймеров (RAPD-анализ), и при помощи специфических праймеров. Представлены изображения всех необходимых электрофореграмм.

Описаны различия в последовательностях геномной ДНК. Подробно описаны как общие данные об уровне гомологии исследуемых последовательностей, так и GC-состав, количество SNP, делеций и инсерций. Проведенный анализ выявил полиморфизмы как в традиционно признанных полиморфными участках: ITS1 и ITS2, так и внутри консервативных

последовательностей, кодирующих структуру 18S, 5.8S и 28S рибосомных РНК.

Особенно интересны исследования формируемых вторичных структур, так как подобный метод анализа для исследования гомологии используется не часто. В то же время, подобные результаты представляют существенный интерес, так как функционирование РНК в некоторых случаях зависит от формируемой вторичной структуры сильнее, чем от первичной последовательности, формирующей эту структуру.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Выводы работы однозначно следуют из полученных результатов, достоверны и заслуживают доверия.

В работе отмечено, что исследование структурной организации генома трематод имеет практическое приложение в медицине и сельском хозяйстве при разработке экспресс-методов генотипирования возбудителей заболеваний. Полученные данные могут служить для проведения экспресс тестирования особей, принадлежащих к исследуемым в работе видам и представителей других групп дигеней.

Несмотря на общее хорошее качество работы, к ней можно высказать несколько замечаний:

1. В описании материалов и методов, сказано, что секвенирование проводили самостоятельно, при помощи реагентов BigDye® TerminatorKit. Здесь хотелось бы видеть упоминание о том, какую технологию и прибор использовали для секвенирования.
2. Также хотелось бы видеть в автореферате последовательность праймера G8, с которым были получены воспроизводимые различия между электрофоретическими профилями RAPD-амплификатов исследуемых спорозист. Это облегчило бы поиск этой последовательности для других исследователей.

Все отмеченные замечания являются техническими и не влияют на общую высокую оценку работы. Таким образом, диссертационная работа Жуковой Алины Александровны «Генетический полиморфизм трематод рода *Leucochloridium*», содержит важные научные результаты, соответствует требованиям, предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор работы заслуживает присвоения искомой степени.

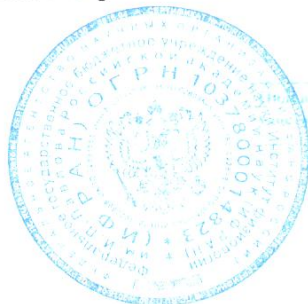
к.б.н., с.н.с. лаб нейрогенетики
Института Физиологии им. И.П. Павлова РАН

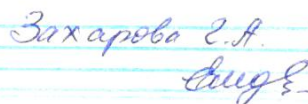

Захаров Геннадий Александрович

Gennadiy.Zakharov@gmail.com

199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6, Институт физиологии им. И.П. Павлова
Российской Академии Наук, лаб. Нейрогенетики.

тел. +7(952)397-2664




Захарова Г.А.
