

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Байрамова Андрея Вячеславовича** на тему
**«Генетические основы эволюции плана строения и появления новых структур у
позвоночных»**,

представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальности 1.5.3 - молекулярная биология.

Диссертация Байрамова Андрея Вячеславовича на соискание степени доктора биологических наук по теме «Генетические основы эволюции плана строения и появления новых структур у позвоночных» посвящена исследованию взаимосвязи эволюции нескольких семейств регуляторных генов позвоночных с появлением и развитием у них важных новых морфологических признаков, таких как конечный мозг и парные конечности. В качестве экспериментальных модельных объектов в работе выступают представители разных классов позвоночных. Особенностью работы является проведение значительной части исследований на современных представителях филогенетически древних групп позвоночных, таких как миноги (круглоротые) и эволюционно древние челюстноротые – хрящевые и осетрообразные рыбы. Эти объекты на сегодняшний день не являются стандартными лабораторными моделями, что само по себе повышает ценность полученных данных. Значительная часть функциональных экспериментов в работе выполнена на традиционном лабораторном объекте – эмбрионах и головастиках шпорцевой лягушки.

Идея работы состоит в том, что для исследования механизмов появления новых структур и признаков лучше всего подходят представители филогенетических групп, у которых исследуемые признаки появляются впервые в эволюции. Для исследований конечного мозга такой базальной группой являются бесчелюстные, у которых впервые в эволюции этот ростральный отдел мозга морфологически сформировался. В случае парных конечностей архаичными носителями признака являются хрящевые рыбы, парные плавники которых рассматриваются в качестве базовой модели не только в силу эволюционной древности группы, но и в силу строения эндоскелетных элементов.

Задачи работы включали исследования филогении, геномной синтении, особенностей экспрессии и функциональных свойств регуляторных генов семейств *Noggin*, *Foxg1*, *Anf* и *Chordin*, а также их роли в морфогенезе конечного мозга и парных конечностей позвоночных.

Материалы диссертации опубликованы в 40 статьях в рецензируемых журналах, включены в состав 4х патентов. Результаты работы были представлены в виде приглашенных докладов и стендовых сообщений на 8 международных конференциях.

Текст диссертации построен по классическому плану, состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературных данных, Результаты, Обсуждение результатов, Материалы и методы исследования и Выводы.

Текст диссертации изложен на 382 страницах машинописного текста, содержит 127 Рисунков и 6 Таблиц. Список цитированной литературы включает 488 работ.

Актуальность темы исследования

Вопросы формирования и изменений плана строения тела в ходе эволюции, а также исследования молекулярных основ развития морфологических признаков в индивидуальном развитии являются на сегодняшний день очень актуальными. План строения тела позвоночных существенно усложнился по сравнению с предковыми формами и поспособствовал очевидному эволюционному успеху группы. Исследуемые в работе морфологические признаки – конечный мозг и парные конечности рассматриваются в качестве уникальных структур, несомненно повлиявших на экологические возможности и эволюционный потенциал позвоночных. Современные исследования эволюционной истории и механизмов появления новых признаков является областью пересечения нескольких научных дисциплин – палеонтологии, эволюционной биологии, сравнительной морфологии, эмбриологии, а также, в последнее время – молекулярной биологии и биоинформатики. Накапливающиеся данные показывают, что на геномном уровне в основе морфологических преобразований может лежать появление и утрата отдельных генов. Одним из путей появления новых генов являются геномные дубликации, в результате которых увеличивается число копий исходных генов и возрастает потенциал для преобразования структуры и свойств дочерних копий. Дубликации могут затрагивать как отдельные гены, так и более протяженные участки генома, вплоть до полногеномных дубликаций, при которых происходит удвоение всего генома организма. Согласно принятой на сегодняшний день точке зрения, на ранних этапах эволюции позвоночных имели место как минимум два раунда полногеномных дубликаций, которые могли стать фундаментом для последующего преобразования усложнения плана строения. Исследования взаимосвязи геномных изменений и появления новых генов с формированием новых морфологических структур и признаков безусловно является актуальной задачей молекулярной биологии и эволюционной биологии развития.

Новизна, ценность и практическая значимость результатов

В ходе выполнения работы Байрамовым А.В. разработана методика содержания и систематического получения в лабораторных условиях живых зародышей речной миноги *L. fluviatilis*, как представителя эволюционно древней линии позвоночных - бесчелюстных.

Проведена оптимизация комплекса лабораторных методик для работы с филогенетически важными, в силу своего архаизма, немодельными объектами – эмбрионами миног, хрящевых и осетрообразных рыб.

В работе впервые описаны множественные паралоги генов *Noggin* и *Foxg1* у представителей миног, акул и осетровых рыб. Гены этих семейств принимают участие в формировании переднего мозга позвоночных, и регуляции клеточной дифференцировки. Впервые исследованы функциональные свойства генов *noggin2* и *noggin4* у челюстноротых, показана их роль в раннем развитии и участие в регенерационных процессах.

Впервые описан и исследован ген *Anf* у миног, как современных представителей бесчелюстных. Обнаружение гена *Anf* у миног позволило подтвердить выдвинутую ранее гипотезу о важности появления гена *Anf* для возникновения уникального конечного мозга позвоночных. Конечный мозг впервые в эволюции появился именно у бесчелюстных и в ходе дальнейшей эволюции развился в кору больших полушарий, обеспечивающую высшие формы нервной активности у позвоночных, в том числе у приматов и человека.

В работе Байрамова А.В. исследованы гены семейства *Chordin* у позвоночных. Впервые показано, что ген *chordin-like1* появился у челюстноротых и может быть связан с возникновением у представителей этой группы уникальных по своему строению парных конечностей. Первоначально парные конечности появились в эволюции челюстноротых в виде плавников предковых рыб, а затем преобразовались в специализированные формы плавников современных костистых рыб и пятипалую конечность наземных позвоночных.

В работе впервые показано, что механизмы нейральной индукции и ранней осевой дифференцировки зародышей миног могут отличаться от классической модели нейральной индукции, разработанной в первую очередь на амфибиях.

Достоверность полученных результатов и личный вклад соискателя подтверждается публикациями в ведущих российских и международных рецензируемых журналах, в большинстве которых Байрамов А.В. является первым автором или автором для переписки.

Структура диссертационной работы Байрамова А.В. построена по классическому типу.

В разделе «**Введение**» автор формулирует идею исследования молекулярных механизмов появления новых структур и признаков через исследование представителей филогенетических групп, у которых эти признаки появляются впервые в эволюции, и

приводит цели и задачи исследования, а также список опубликованных работ по теме диссертации.

Раздел «**Обзор литературы**» развернутый (около 75 страниц), посвящен нескольким взаимосвязанным в контексте диссертационной работы темам и включает:

- описание особенностей немодельных лабораторных объектов, задействованных в работе, а также подходов и методов исследования особенностей экспрессии и функциональных свойств регуляторных генов у этих объектов с учетом их объективных ограничений;

- обзор исследований геномных дупликаций, в первую очередь у позвоночных;

- описание исследований молекулярных основ формирования конечного мозга и имеющихся данных по генам семейств *Noggin*, *Foxg1* и *Anf*, исследованию которых во многом и посвящена диссертационная работа;

- подробное описание проблемы появления в эволюции и развития в онтогенезе позвоночных парных конечностей;

- описание особенностей эмбриональной индукции у представителей разных классов позвоночных и сигнальных каскадов, участвующих в этих процессах.

Стоит отметить, что по большинству описанных проблем автором опубликованы обзорные статьи в российских и международных журналах.

Раздел «**Результаты**» начинается с описания исследований генов семейства *Noggin*, последовательно представленных в эволюционно-филогенетическом порядке. Сначала приведено описание и результаты функциональных исследований множественных паралогов генов *noggin* у миног, как базальной группы позвоночных. Затем описаны гены *noggin* у акул, как древнейших представителей челюстноротых. После этого приводятся результаты подробных исследований множественных паралогов *noggin* у амфибий, проведенных на шпорцевой лягушке. Здесь детально исследованы функциональные свойства паралогов *noggin* и выявлена их роль в регуляции ряда ключевых внутриклеточных сигнальных каскадов, развитии переднеголовных структур, а также регенерации у позвоночных.

Второй подраздел «Результатов» посвящен известному переднеголовному гену *foxg1*, множественные паралоги которого у представителей эволюционно древних групп впервые описаны в настоящей работе. Приводится описание генов *foxg1* у миног и осетрообразных рыб.

Третий подраздел «Результатов» посвящен описанию результатов успешного поиска и функциональных исследований переднеголовного гена *anf* у миног (бесчелюстных). Основной целью этого подраздела работы являлось подтверждение выдвинутой ранее

гипотезы о связи появления гена *anf* у предковых позвоночных с возникновением у них конечного мозга, который впервые в эволюции появляется как раз у бесчелюстных.

Четвертый подраздел «Результатов» посвящен исследованиям гена *chordin-like1*, который, согласно приведенным данным, впервые появляется у челюстноротых и мог быть связан с появлением парных конечностей. Этот ген исследован в работе у хрящевых и осетровых рыб, парные плавники которых рассматриваются в качестве базовой модели конечностей позвоночных.

Заключительный подраздел «Результатов» содержит описание особенностей нейральной индукции у миног и вероятных отличий этих механизмов от классической модели нейральной индукции, разработанной преимущественно на эмбрионах амфибий.

Раздел «Обсуждение результатов» структурирован аналогичным образом, включает обобщение полученных результатов по каждому из исследованных семейств генов.

В эволюционном контексте отмечен консерватизм функциональных свойств генов *noggin* у представителей разных классов позвоночных, а также описан уникальный случай утраты гена *noggin1* у пластиножаберных (акулы и скаты), что, по мнению автора, может быть связано с особенностями формирования уникального хрящевого скелета у этих животных.

Для множественных паралогов гена *foxg1* отмечена пространственная субфункционализация, которая могла привести к наблюдаемой утрате отдельных паралогов в эволюционно молодых группах позвоночных. В то же время, согласно гипотезе, выдвинутой в работе, появление на ранних этапах эволюции челюстноротых трех паралогов важного регуляторного переднеголового гена *foxg1* могло стать одним из триггеров существенного развития переднего мозга в этой группе животных и, в частности, появления уникального конечного мозга, отсутствующего у бесчерепных и оболочников.

Монофилия семейств генов *noggin* и *foxg1* у позвоночных подтверждена анализом филогении и локальной геномной синтении, а также наличием лишь одного гена каждого из семейств у ближайших родственников позвоночных – бесчерепных и оболочников.

Описанный в работе ген *anf* бесчелюстных, гомологичный по своим свойствам ортологам *anf* у челюстноротых, подтверждает выдвинутую ранее гипотезу о том, что появление генов класса *Anf* могло быть существенным, если не ключевым, фактором в возникновении у позвоночных структур конечного мозга.

Исследованный в работе представитель семейства *Chordin* - ген *chordin-like1* впервые появился в эволюции у челюстноротых, предположительно, в результате дубликации эволюционно древнего гена *chordin-like2*, что подтверждается анализом

локальной геномной синтении. Выявленная экспрессия *chordin-like1* в плавниках и формирующихся жаберных дугах серой кошачьей акулы, плавниках у стерляди и конечностях амфибий может отражать сходство механизмов формирования этих структур. На основе того, что экспрессия *chordin-like1* в плавниках акул начинается на самых ранних стадиях их индукции, еще до того, как зачаток плавника морфологически формируется, автором делается предположение, что появление этого гена могло сыграть важную роль в закладке и развитии парных конечностей у челюстноротых. Это предположение подкрепляется способностью *chordin-like1* модулировать активность сигнальных каскадов Wnt, участие которых в развитии зачатков конечностей описано в литературе.

Выводы, сформулированные автором, являются обоснованными, в полной мере отражают основные результаты работы, показывают новизну и значимость диссертационного исследования.

Отдельно можно отметить, что работа хорошо иллюстрирована, содержит большое количество наглядных схем и фотографий высокого качества.

В целом диссертационная работа Байрамова А.В. представляет собой чрезвычайно интересное, содержательное и высококачественное исследование в области молекулярной биологии развития, проведенное на уникальных и филогенетически важных объектах, актуальное в контексте современных работ в этой области.

Содержание диссертации в полной мере соответствует специальности 1.5.3 - молекулярная биология.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Замечания к диссертационной работе

Работа не содержит существенных недостатков. В качестве замечания можно отметить два момента:

- отсутствие подробного описания методов,
- опечатки и не очень удачные речевые обороты.

Указанные замечания не носят принципиального характера и не снижают ценности представленной диссертации.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Байрамова Андрея Вячеславовича на тему «Генетические основы эволюции плана строения и появления новых структур у позвоночных», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук

по специальности 1.5.3 - молекулярная биология, по своей актуальности, научной новизне, полноте описания и достоверности полученных результатов соответствует всем критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; 20.03.2021 г. № 426; 11.09.2021 г. №1539; 29.09.2022 г. № 1690) и предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Байрамов Андрей Вячеславович заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Главный научный сотрудник,
заведующий Лабораторией регуляции
экспрессии генов в развитии
ФГБУН Институт биологии гена РАН
профессор РАН, д.б.н.

Шидловский Юлий Валерьевич

119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 34/5
Тел. +7 (499) 135-60-89
E-mail: yul.biogen@yandex.ru

25.09.2024

ПОДПИСЬ

ЗАВЕРЯЮ.

ЗАМ. ДИРЕКТОРА ИБГ РАН

МАНСУРОВА Г.В.