

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию Лобова Арсения Андреевича на тему: «Белки взаимодействия гамет как факторы репродуктивной изоляции криптических видов рода *Littorina* Féussac, 1822», представленную на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Взаимодействия гамет характерны для всех животных, размножающихся половым путем. Однако их молекулярные механизмы изучены только у ряда модельных объектов, в первую очередь у иглокожих и позвоночных. Для брюхоногих моллюсков *Cenogastropoda* не было описано ни одного молекулярного посредника этих процессов. Помимо фундаментальной значимости изучения взаимодействия гамет, исследования этих молекул представляют интерес для понимания механизмов микроэволюции. Было показано, что несовместимость гамет, в основе которой лежат видоспецифические взаимодействия молекул самца и самки в ходе оплодотворения, может формироваться в сравнительно короткие сроки даже в условиях симпатрии. Учитывая, что все известные процессы взаимодействия гамет происходят сходным образом, этот механизм быстрого формирования репродуктивной изоляции может быть универсальным для многих организмов. Тем не менее, для беспозвоночных животных с внутренним оплодотворением он продемонстрирован только для насекомых. Для сравнительного анализа необходима разработка новых модельных систем, позволяющих понять роль полиморфизма белков взаимодействия гамет в микроэволюционных процессах.

В качестве такой модели диссертант предлагает криптические виды моллюсков рода *Littorina* с внутренним оплодотворением. Эти моллюски активно изучаются в Санкт-Петербургском государственном университете, а вид *L. saxatilis* представляет важный модельный объект для микроэволюционных исследований, проводимых во многих научных центрах Европы. Молекулярные посредники взаимодействия гамет для этой группы моллюсков описаны не были. Используя косвенные данные, диссертант предположил, что несовместимость гамет играет важную роль в процессах видообразования этих моллюсков. В соответствии с этим, задача диссертации заключалась в поиске и описании белков, образующихся в репродуктивной системе самцов, и потенциально вовлеченных в процессы взаимодействия и несовместимости гамет.

Диссертация изложена на 69 страницах на русском и 64 на английском языках и включает Введение, пять глав, Заключение, Выводы, Материалы и методы, Благодарности, Список литературы и приложения. Работа основана на шести публикациях в журналах, индексируемых WoS/Scopus и содержит 17 рисунков и четыре таблицы. Список литературы насчитывает 121 источник.

Глава 1 «Обзор литературы» подразделена на две части. Первая, «Несовместимость гамет в видообразовании», посвящена обсуждению репродуктивной изоляции как одной из центральных проблем эволюционной биологии. Диссертант рассматривает основные факторы репродуктивной изоляции, выделяя несовместимость гамет, с изучением которой и связана работа. Далее приводится подробное рассмотрение молекулярных механизмов взаимодействия гамет и их несовместимости. Из этой главы читатель получает представление о современном состоянии этой проблемы и том, что разработка новых моделей для изучения взаимодействия и несовместимости гамет является актуальной. Во второй части «Обзора литературы», «Подрод *Neritrema* как модель для изучения микроэволюционных последствий несовместимости гамет», диссертант рассматривает систему из пяти криптических видов подрода *Neritrema* в качестве потенциально информативной модели для изучения несовместимости гамет у видов с внутренним оплодотворением.

В главе 2 «Прекопулятивные репродуктивные барьеры в группе криптических видов моллюсков подрода *Neritrema* рода *Littorina*», автор приводит собственные экспериментальные данные по изучению копулятивной активности изучаемых видов в

природных популяциях. Эти данные подтверждают возможность контакта (хоть и нерегулярного) гетероспецифичных половых продуктов в естественных популяциях, что является необходимым критерием для реализации несовместимости гамет.

В главе 3 «Идентификация видоспецифичных белков взаимодействия гамет моллюсков рода *Littorina*», диссертант приводит данные сравнения протеомов репродуктивных тканей: пенисов, семенных везикул и простаты, самцов пяти изучаемых видов. По результатам этого анализа А.А. Лобову удалось выявить 15 мажорных видоспецифичных репродуктивных белков. Однако ни один из них не удалось идентифицировать, используя существующие базы данных.

Глава 4 «Идентификация и описание параспермального белка LOSP» посвящена одному из белков, рассмотренных в предыдущей главе. Этот белок представляет новое для науки семейство и не имеет гомологов в базах данных. Он специфично экспрессируется в параспермах моллюсков рода *Littorina* и, предположительно, связан с оплодотворением. Однако точная его функция все еще не известна.

В главе 5 «Полиморфизм LOSP как фактор репродуктивной изоляции моллюсков рода *Littorina*», автор рассматривает полиморфизм кДНК этого белка у представителей пяти видов рода *Littorina* с подробным описанием внутривидового полиморфизма у *L. obtusata* и *L. saxatilis/L. arcana*. Обнаруженный паттерн полиморфизма *losp* аналогичен паттерну, описанному ранее для белков взаимодействия гамет, и не противоречит возможности участия LOSP в поддержании репродуктивных барьеров. Однако прямого экспериментального подтверждения этому получить пока не удалось.

В Заключение диссертант обобщает полученные данные. Далее следует раздел Выводы, которые не дублируют заключение.

В Материалах и методах кратко описаны основные методы, использованные в работе. Хотелось бы отметить широкий спектр освоенных диссертантом методов, примененных к немодельным объектам, в том числе - иммуногистохимию, протеомный анализ, RACE-амплификацию, *in situ* РНК-гибридизацию. Подробное описание методологии не приводится и ограничивается ссылками на первоисточники – опубликованные статьи диссертанта.

В целом, работа выстроена логично и последовательно – каждый этап многолетнего исследования логически следует из предыдущего. Тем не менее, как отмечает сам автор, работа еще далека от завершения: «На данный момент нами описан только один белок, потенциально вовлеченный в эти процессы – LOSP, и обнаружено не менее 13 белков-кандидатов, изучение которых вместе с прямыми функциональными экспериментами необходимо будет провести в будущем». Однако это не умоляет достоинств работы, а, напротив, обозначает широкие перспективы для её дальнейшего развития. Диссертант выявил целый ряд белков, предположительно представляющих неописанные ранее семейства. Это открывает возможности для изучения каждого из этих белков, проведения экспериментов с ними на клеточных или животных моделях и поиска их партнеров в женской репродуктивной системе.

Замечания к работе носят редакторский характер. В тексте присутствует ряд опечаток и неудачных формулировок, например:

Стр. 8, пропущены запятые: «...в 19 веке с появлением работ Дарвина трансформизм ...».

Стр. 10: «Так, всего 10-ти аминокислотных замен в молекуле акросомального белка биндина достаточно для формирования репродуктивной изоляции между двумя симпатрическими видами морских ежей». Понятно, что автор хотел сделать акцент на том, что формирование репродуктивной изоляции возможно в короткие, по эволюционным меркам, сроки. Однако сама цифра 10-аминокислот мало о чем говорит – большое значение играет не только сам факт замены, но и, например, его местоположение.

Для термина «postcopulatory prezygotic reproductive barriers, PCPZ» автор не приводит русского аналога и использует его английскую аббревиатуру.

Стр. 47, опечатка: «нам удалось продемонстрировать выявить частичную прекопулятивную репродуктивную изоляцию».

В целом, представленное исследование выполнено на высоком международном уровне как в отношении его актуальности, так и использованной методологии. Работа имеет значение для фундаментального изучения молекулярных механизмов взаимодействия гамет и, в дальнейшем, может сыграть важную роль в развитии наших представлений о роли репродуктивной изоляции в микроэволюционных процессах. Оригинальность и достоверность полученных данных, а также обоснованность сделанных в работе выводов не вызывает сомнений, что также подтверждается высоким уровнем журналов, в которых были опубликованы представленные результаты.

Таким образом, диссертация Лобова Арсения Андреевича на тему: «Белки взаимодействия гамет как факторы репродуктивной изоляции криптических видов рода *Littorina* Férussac, 1822» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 № 6821/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Лобов Арсений Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология. Пункт 11 указанного Порядка диссертантом не нарушен.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук,
профессор кафедры зоологии беспозвоночных
биологического факультета
Санкт-Петербургского государственного Университета

Островский Андрей Николаевич

20.01.2021