

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

На дисертаційну роботу Утевської Ольги Михайлівни «Генофонд українців за різними системами генетичних маркерів: походження і місце проживання на європейському генетичному просторі», представленої на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Актуальність. Науковий напрямок, обраний дисертантом, присвячений геногеографічним дослідженням особливостей українського генофонду в контексті поглибленого аналізу положення українців у системі європейського генофонду з позицій визначення генетичного поліморфізму за спектром нейтральних молекулярно-генетичних маркерів, джерел і етапів його формування у часі й просторі.

Даний аспект досліджень є актуальним і перспективним з позицій фундаментальної науки, оскільки розширює уяву не тільки про генетичну різноманітність, але і шляхи формування генофондів великих регіонів, народи яких були об'єднані спільною історією. Не менш важлива практична значимість, оскільки значна частина наукових напрацювань присвячена формуванню колекції ДНК зразків українців як складової популяційно-генетичного Біобанку народонаселення Північної Євразії з розміщенням даних у світових інформаційних базах.

В світовій практиці геногеографічні популяційні дослідження українців, як правило, проводяться з позицій аналізу генетичного поліморфізму індивідів, які проживають за межами України у складі етнічно неоднорідного населення. Хоча ці дослідження і дозволили скласти загальну картину особливостей українського генофонду як східноєвропейського і визначити коло найближчих до українців популяцій, невирішеною лишилась ціла низка питань, зокрема питання особливостей внутрішньої структури українського генофонду, напрямку міграційних потоків у минулому; яким є внесок населення Північного Причорномор'я в формування генофонду Європи і які компоненти генофонду відображають зв'язок з іншими географічними регіонами та етнічними групами найближчих до українців популяцій. Саме вирішенню цих питань і присвячена дана дисертаційна робота, яка безумовно є актуальною і перспективною.

Слід зазначити, що методологічно дисертаційна робота побудована коректно з позицій використання конкретного спектру нейтральних молекулярно-генетичних маркерів, які є стандартними відносно проведення геногеографічних популяційних досліджень: однобатьківські маркери –

мтДНК і SNP і STR маркерів Y хромосоми, що дозволяє простежити материнську і батьківську лінії в еволюції генофонду і дані отримані автором є сумісними з результатами світових набутків в даному напрямку.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана на кафедрі генетики і цитології біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна у межах наукового напрямку кафедри і мультицентрових міжнародних досліджень: в рамках міжнародної програми «Генографія» у співпраці з регіональним центром Північної Євразії (кер. – проф. О.В. Балановська), відповідно до наукового проекту фонду фундаментальних досліджень ХНУ імені В.Н. Каразіна «Вивчення генофонду слов'янських і неслов'янських популяцій України» (2012), за двостороннім україно-російським науковим проектом Державного фонду фундаментальних досліджень України «Генофонд, філогеографія и генографія двадцяти популяцій України і півдня Росії: аналіз аутосомних маркерів ДНК-ідентифікації, SNP и STR маркерів Y-хромосоми» (2013-2014 рр.) (Ф53.4 / 071).

Наукова новизна одержаних результатів.

Полягає в нових відомостях відносно характеристики особливостей українського генофонду: Показано, що Y-хромосомний генофонд українців характеризується високою генетичною різноманітністю, низькою внутрішньою диференціацією, цілісністю і відокремленістю від сусідніх етнічних груп. Визначено компоненти аутосомного генофонду українців, його становище у структурі європейського генофонду, оцінений процентний внесок древніх європейських популяцій. Генетично обгрунтовано виділення території України як контактної зони і генетичного бар'єру в межах Європи. За результатами аналізу сегментів геному, ідентичних за походженням, підтверджено існування двох головних дославянських генетичних субстратів - «центрально-східноєвропейського» для західних і східних слов'ян і «південно-східноєвропейського» для південних слов'ян.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження є важливими для вирішення питань етнічної історії українців, історії населення Північного Причорномор'я та історії населення Європи. Зібрана колекція ДНК зразків українців зареєстрована як складова великого популяційно-генетичного Біобанку народонаселення Північної Євразії і може бути використана для досліджень у галузі популяційної та медичної генетики людини. Отримані дані щодо поліморфізму ДНК в популяціях українців розміщені у світових інформаційних базах даних і відкриті для використання в дослідженнях з генетики і геноміки людини. Отримана

інформація використовується у викладанні університетських спецкурсів з популяційної генетики, генетики людини, біоінформатики.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто виконано більшість робіт з формування колекції зразків ДНК, аналізу отриманих даних, систематизації та узагальнення отриманих результатів. Автор приймала участь в експедиційних обстеженнях населення і зборі біологічних зразків. Виконано лабораторні роботи з виділення ДНК, генотипування і глибокого субтипуювання зразків за SNP і STR маркерами Y хромосоми. Проведено різні види генетико-статистичного і популяційно-генетичного аналізу за поліморфізмом одонуклеотидних маркерів. Проаналізовано результати за популяціями українців на внутрішньоетнічному й міжетнічному рівнях, зроблені порівняння, узагальнення та висновки. Ступінь участі в спільних наукових публікаціях відзначена у переліку опублікованих робіт.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень представлені на наступних конференціях: X Міжнародна наукова конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів», 14-18 вересня 2015 р., Чернівці, Україна; VII з'їзд Російського товариства медичних генетиків, 19-23 травня 2015 р., Санкт-Петербург, Росія; VIII Міжнародна наукова конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів», 23-27 вересня 2013 р., Алушта, Україна; VII Міжнародна наукова конференція «Фактори експериментальної еволюції організмів», 26-30 вересня 2011 р., Алушта, Україна; конференція «Проблеми генетики населення та етнічної антропології», пам'яті Ю.Г. Ричкова, 19-21 листопада 2013 р., Москва, Росія; X Конгрес етнографів і антропологів Росії, 1-5 липня 2013 р., Москва, Росія; міжнародна конференція «Проблеми популяційної та загальної генетики», пам'яті Ю.П. Алтухова, 14-17 листопада 2011 р., Москва, Росія; IX конгрес етнографів і антропологів Росії, 4-8 липня 2011 р., Петрозаводськ, Росія. IV міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми біології, нанотехнологій і медицини», 22-25 вересня 2011 р., Ростов-на-Дону, Росія.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 39 наукових робіт, у тому числі 29 статей у періодичних виданнях та збірниках наукових праць. Серед них 24 статті опубліковані в провідних наукових журналах і виданнях, які рекомендовані МОН України, у тому числі 16 статей в міжнародних реферованих журналах.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 372 сторінках, побудована за загальноприйнятою формою, складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, сьоми розділів власних досліджень, розділу аналізу і узагальнення результатів, висновків, списку використаних літературних джерел (345 посилань), додатків. Дисертація ілю-

стрована 56 таблицями і 81 рисунком, додаток містить 35 таблиць і 2 рисунка.

У вступі до дисертаційної роботи автор наводить сучасні світові дані з даної наукової проблеми, що обґрунтовують актуальність обраного наукового напрямку для дослідження. Мета роботи та завдання сформульовані чітко та коректно.

Огляд літератури представляє собою логічний аналіз сучасного стану вивчення проблеми, з відображенням суперечливих та мало вивчених питань, що є обґрунтуванням вибору наукового напрямку дослідження. В розділі представлений певний обсяг ілюстративного матеріалу, що дає підставу для використання у педагогічному процесі для студентів і фахівців. Разом з тим, на мій погляд в розділі недостає огляду відносно використання в популяційних дослідженнях аутосомних широкогеномних даних, оскільки основна увага зосереджена на дослідженнях маркерів Y-хромосоми і мітохондріальної ДНК. Також не завадив би короткий аналіз даних з антропології українців, що сприяло би більш активному залученню цих даних в обговорення результатів.

У розділі 2 (**матеріали і методи**) наведені принципи формування репрезентативної вибірки для дослідження - було обстежено 17 популяцій з 13 областей, що представляють основні історично-територіальні підрозділи України. До загальної вибірки було включено 1197 неспоріднених між собою чоловіків, корінних жителів неурбанізованих населених пунктів, які відносяться до третього покоління українського етносу. Автором докладно представлені методи **генетико-статистичний аналізу**: генетичної схожості популяцій, оцінки генетичної різноманітності і генетичної диференціації, аналізу предкової компонентів генома, аналізу геномних сегментів, ідентичних за походженням, а також **філогенетичного аналізу гаплогруп Y хромосом та картографічного аналізу**. Отже, обсяг фактичного матеріалу є цілком достатнім для аналізу, а використання сучасних адекватних лабораторних і статистичних методів роблять висновки і наукові положення дисертації обґрунтованими.

Розділі 3.1 - розглянуто поліморфізм Y-хромосоми в популяціях українців за основними групами генофонду відносно спектру і частоти гаплогруп.

На основі генотипування зразків за SNP-маркерам Y-хромосоми, автором надана характеристика генетичним портретам досліджених популяцій за даною генетичною системою. Серед 32 гаплогруп Y-хромосоми, визначених в українських і південноросійських зразках, з частотою не менш 5 % зустрічались 7 гаплогруп: **R1a1a*** (M198), **I2a1** (P37.2),

R1a1a1g1 (M458), **R1b1a2** (M269), **E1b1b1a1** (M78), **I1** (M253), **N1c1** (M178), які сумарно склали близько 90 % українського генофонду.

Автор робить висновок, що спектр і частоти Y-хромосомних гаплогруп в популяціях українців є типовими для Східної Європи, але характеризуються більшою генетичною різноманітністю за набором і частотам ліній Y-хромосоми. Висока гаплотипова різноманітність, на думку автора, відповідає відсутності ефектів генетичного дрейфу і вказує на відсутність слідів ізоляції або ефекту зосновника.

В розділі 3.2 вивчено подібності українських популяцій з різних територіальних підрозділів за маркерами Y-хромосоми: на основі співставлення генетичної різноманітності регіональних підрозділів за даними поліморфізму Y-хромосоми було визначено генетична диференціація популяцій з різних регіонів України і описані географічні тренди в їх частотах і різноманітності на території України. За висновком автора генна різноманітність GD українців за набором і частотою гаплогруп Y-хромосоми є відносно високим на тлі географічних і історичних сусідів, зокрема, східних слав'ян. Разом з тим серед східних слав'ян українці характеризуються найменшою внутрішньою диференціацією генофонду. Тобто, міграції мужского населення в межах української території були інтенсивними, різнопросторовими, що призвело до гомогенності сучасного українського генофонду.

В розділі 3.3 на основі дослідження популяції українців за маркерами Y хромосоми у співставленні з сусідніми народами, зокрема шляхом порівняння оточуючих етнічних груп і українців з прикордонних регіонів-. (автором досліджені райони Белгородської області з українським і російським населенням за поліморфізмом 12 аутосомних локусів) встановлено, що вони об'єдинались в кластери згідно географічної близькості, а не національності; при цьому генетична відстань високо корелювала з географічною ($r = 0,77$). За результатами даної роботи українці, які мешкають в Белгородській області РФ, мали проміжні характеристики генофонду за поліморфізмом Y-хромосоми, що може бути обумовлено просторовими характеристиками брачної міграції і переважаючим етнічним оточенням.

Внутрішньоукраїнська диференціація найбільш виражена між групами популяцій Полісся, лівобережного і правобережного лісостепу.

Висока дисперсія мікросателітних повторів спостерігається по краю етнічного українського ареалу – на Закарпатті, Слобожанщині, Буковині, відображая мінливість, привнесену міграціями і прикордонними

взаємодіями. Серії однакових гаплотипів у Поліссі і в Закарпатті свідчать про наявність ефекту зосновника.

В розділі 3.4 представлені дані відносно положення популяцій українців на європейському ландшафті за маркерами Y-хромосоми. Розділ також складається з декількох підрозділів.

Проведений аналіз міжпопуляційних порівнянь українців з іншими європейськими народами за характеристиками Y-хромосомних ліній на основі розрахованих парних генетичних відстаней D_{Nei} і F_{ST} з використанням частоти однонуклеотидних поліморфізмів (SNP), та мікросателітних локусів (STR). Окрім особистих досліджень використовувалась інформація і інших опублікованих джерел. Мапи генетичних відстаней побудовані для 33 популяцій Східної Європи і на цій основі визначені основні патерни генетичної схожості за маркерами Y хромосоми на території Східної Європи: За цими патернами виділені наступні групи: **Північно-східна група** (естонці, литовці, латиші, карели, комі, північні росіяни); **Центрально-східноєвропейська група** (центральні і південні росіяни, білоруси, українці, поляки, словаки, кашуби, сорби); **Волзька група** (татари, чуваші, мокша); **Центрально-європейська група** (угорці, молдавани, словенці); **Західно-Балканська група** (хорвати, боснійці); **Східно-Балканська група** (македонці, болгари, румуни).

Також розглянута **генетична схожість українців з східноєвропейськими популяціями за поліморфізмом Y-STR локусів.**

Встановлено, що у цілому картина генетичної афіліації східноєвропейських популяцій не має принципових відмінностей але спостерігається більш чітке розділення популяцій східноєвропейської півночі на Прибалтійську і «Приуральську» групи.

Далі розглянуті взаємовідносини слов'янських народів за Y хромосомою. Автором проведений Філогенетичний і картографічний аналіз Y-хромосомних гаплогруп виконаний з метою реконструювати їх історію – час і місце виникнення, шляхи поширення з міграційними потоками, розгалуження на дочірні підгрупи. Встановлено, що серед західних і східних слов'ян українські популяції займають середнє положення і утворюють відокремлений кластер до якого близьки білоруські, польські, і деякі хорватські популяції. Високе значення мікросателітної різноманітності, що отримане для України, може свідчити як про змішування різних ліній R-M269, так і про можливе виникнення західноєвропейських варіантів у Північному Причорномор'ї.

Наступний підрозділ присвячений дослідженню карт генетичних відстаней від українців до інших популяцій. Для виявлення області генетичної схожості українців з іншими народами, були побудовані дві мапи генетичних відстаней від українців: 1) за частотами Y-хромосомних гаплогруп 2) за варіацією STR локусів. Максимальна генетична схожість ($D_{Nei} < 0,03$ для NRY; $F_{ST} < 0,005$ для STR) виявлена для популяцій українців у територіальних межах України, а також для південних білоруських популяцій Полісся. Дуже близькими є популяції словенців, хорватів, словаків, східних поляків, північних і центральних білорусів, росіян з південно-західних областей європейської частини Росії. Відносно віддалені від українців північні поляки, сорби, кашуби, центральні росіяни, молдавани і ще більш віддаленими є популяції литовців, латишів і естонців, північних росіян, уральських популяцій, румунів, угорців, чехів, всіх південних слов'ян, східних німців, татар. В межах Європи найбільш несхожі на українців ($D_{Nei} > 0,5$) західноєвропейські популяції. Також генетично далекими від українців були народи, які населяють Кавказ, Близький Схід, Прикаспійський регіон, Казахстан та Східний Сибір. Всі ці положення переконливо ілюстровані фактичним матеріалом і статистичним аналізом.

Розділ 3.5 присвячений філогенетичному і картографічному аналізу гаплогруп Y хромосоми з метою реконструкції їх історії, часу і місця виникнення, а також шляхів розповсюдження з міграційними потоками розгалуження на дочерні групи. Автором розглядалося молекулярне різноманіття всередині гаплогрупи з позицій географічного розповсюдження і визначення зон мінімального і максимального різноманіття, що дозволило простежити шляхи міграції населення, ознаки генетичного дрейфу інших подій демографічної і етнічної історії.

Гаплогрупа R-M269. Серед Y-хромосом українців, що відносяться до лінії R-M269, зустрічаються як західноєвропейські, так і південнозахідноазіатські субваріанти у співвідношенні 2:1. Високе значення мікросателітної різноманітності, що отримане для України, може свідчити як про змішування різних ліній R-M269, так і про можливе виникнення західноєвропейських варіантів у Північному Причорномор'ї.

Гаплогрупа N-M178. На філогенетичній мережі гаплотипів гаплогрупи N-M178 виділяються два етнічно специфічних кластера, в одному кластері основним етнічним компонентом є балти, в іншому – представники фіно-угорських груп. Балтський субваріант DYS19=15 переважає практично у всіх популяціях українців, складаючи дві третини зразків N-M178.

Гаплогрупа I-P37.2. Характер мікросателітної різноманітності I-P37.2 свідчить про те, що ця гаплогрупа пройшла через вторинну експансію

приблизно $2,96 \pm 0,73$ тис. років тому; область, звідки пішло вторинне поширення I-P37.2, перебувала у межах Південно-Східної Європи, імовірно в Середньому Подніпров'ї або Східних Карпатах; частотний пік I-P37.2 на Балканах пов'язаний з ефектом засновника.

Гаплогрупа R-M458. Области підвищених частот гаплогрупи R-M458 можуть відображати певні міграційні коридори в межах Східної Європи. Перший «коридор» тягнеться від узбережжя Балтійського моря уздовж польської Вісли, потім вздовж білоруської Прип'яті, продовжується у напрямку Чорного моря уздовж українського Дніпра.

Розділ 3.6 Вданому розділі представлені дані відносно генетичної аффіліації українців за лініями мітохондріальної ДНК

Автор доводить, що Європейське положення України обумовлює переважну присутність у мітохондріальному генофонді українців західноєвразійських гаплогруп мтДНК (H, HV, I, J, K, N1b, T, U2, U4, U5a, U5b, V, W, X) – їх загальна частка становить понад 98%. Африканські (L, M1) і східноєвразійські (A, D, G, N9, M10) гаплогрупи зустрічаються з мінімальними частотами – сумарно близько 1% і 0,14% відповідно.

Области генетичної схожості українців за маркерами мтДНК, що представлені на картах генетичних відстаней, розповсюджуються в північному і західному напрямках від України і охоплюють території Польщі, Німеччини та інших країн узбережжя Балтійського і Північного морів, в тому числі Західну Скандинавію і Британські острови.

Мітохондріальні гаплотипи (мітотипи) українців та інших європейців були згруповані до кластерів за подібністю їх географічного поширення. Четверть українських мітотипів відноситься до головного географічної кластеру, широко поширеного в межах Європи. Близько 9% мітотипів специфічно поширені серед слов'янських популяцій (південних білорусів і східних поляків), що виявляє близькість до географічного району Полісся. Близько 6,7% мітохондріального генофонду українців показує спорідненість з північноєвропейськими фіно-мовними популяціями. Незначні сигнали (2-3,5%) пов'язують мтДНК генофонд українців із західно-сибірськими і північно-кавказькими популяціями.

В розділі 3.7. розглядається генофонд українців за геномними аутосомними даними в контексті євразійського оточення.

В даному розділі представлені дані аналізу масштабних тенденцій в рзподіленні генетичної мінливості. Дослідження проводились на великих масивах з використанням широкогеномних панелей аутосомних SNP маркерів. Представлені компоненти аутосомного генофонду українців, проаналізована схожість з іншими популяціями, визначені можливі

коридори і бар'єри на шляху генних потоків. Українці мають одне з найбільш високих в Європі значень генного різноманіття GD як за набором і частотами гаплогруп Y-хромосоми, так і за гаплогрупами мтДНК. Характер розподілу значень GD на географічних картах дозволяє припустити, що області високого різноманітності пов'язані з контактними зонами груп населення з різними генофондами. Виявлені області високого генного різноманіття за гаплогрупами мтДНК добре збігаються з розподілом генетичних бар'єрів в Європі. Територією України проходить один з таких бар'єрів, який тягнеться в меридіональному напрямку від Північного Причорномор'я і далі на північ уздовж Уральського хребта і відокремлює Центральну Європу від Кавказу, Центральної Азії та Східної Сибіру.

Автор робить висновок, щодо пропорції трьох предкових компонентів у генофондах сучасних українців – $EEF=0,463$; $WHG=0,377$; $ANE=0,160$ і що за даним співвідношенням українці близьки до населення північних областей Європи.

В останньому розділі «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» автор проводить аналіз отриманих результатів досліджень у співставленні з світовими набутками в цій галузі. Проведений аналіз свідчить про високу наукову обґрунтованість отриманих даних і свідчить про перспективність подальшої розробки даного наукового напрямку як з позицій фундаментальної науки так і з позицій прикладної популяційної генетики.

Автореферат повністю відповідає матеріалам, викладеним в дисертаційній роботі, а у висновках, повністю відображені усі наукові положення дисертації.

Відносно оформлення дисертаційної роботи слід зазначити, що вона викладена хорошою академічною українською мовою. Рукопис містить велику кількість ілюстративного матеріалу, що значно полегшує сприйняття матеріалу.

Існує певна кількість неточностей і помилок в тексті, збита нумерація малюнків - після рис. 3.37 (розділ 3.4) йде рис. 3.4, але це не заважає загальному сприйняттю матеріалу і не має принципового значення. У процесі рецензування виникли деякі дискусійні питання:

1. Чому в роботі не представлені вибірки з південних і південно-східних областей України?
2. В опублікованих джерелах присутні відомості про те, що окремі гаплогрупи Y хромосоми асоційовані з чоловічим безпліддям через мутації у локусах відповідальних за сперматогенез. Чи можна, в

- такому випадку, стверджувати, що гаплогрупи є селективно нейтральними маркерами?
3. У розділі 3.2 присутні докладні парні порівняння обласних вибірок українців і їх угруповань (лісостеп, Полісся і т.д.) за частотами Y-хромосомних гаплогруп. При цьому аналогічні порівняння щодо варіації Y-STR локусів відсутні. Оскільки останні вважаються більш «чутливими» маркерами, чи не варто було б використовувати порівняння і за ними? Можливо, це призвело б до отримання якоїсь нової інформації?
 4. Які, на Вашу думку, перспективи розвитку даного наукового напрямку в майбутньому, оскільки шляхи міграційних процесів у світі мало передбачувані?

Висновок. Дисертаційна робота «Генофонд українців за різними системами генетичних маркерів: походження і місце проживання на європейському генетичному просторі», представленої на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика є закінченою науковою працею, за актуальністю і новизною, науковою концепцією і методичними підходами виконання характеризується як високопрофесійна робота, яка має перспективи розвитку і повністю відповідає п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. за №567, а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 генетика.

Опонент

Завідувач лабораторії

імуногенетики Державної установи

«Національний науковий центр

радіаційної медицини НАМН України»,

д. б. н., професор

