

**В Диссертационный совет Д 003.011.01 на базе  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и  
генетики Сибирского отделения Российской академии наук»**

**Отзыв официального оппонента**

о диссертации Елены Евгеньевны Корболиной «Выявление генов, с которыми ассоциировано развитие ранних нейродегенеративных изменений у крыс OXYS с использованием конгенных линий», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07– генетика

Диссертационная работа посвящена изучению генетического контроля процесса старения нервной системы на модели крыс. В работе проведен широкий круг как экспериментов генетического характера, так и полногеномный анализ различий экспрессии генов в линиях с нормальным и ускоренным старением.

Обзор литературы диссертации содержит сведения о подходах к изучению механизмов развития нейродегенеративных заболеваний, о болезни Альцгеймера и возрастной макулярной дегенерации у человека и животных, функциональных и морфологических особенностях преждевременно стареющих крыс OXYS, как перспективной модели патологии, сходной с болезнью Альцгеймера.

Перед диссертантом были поставлены задачи: понять действительно ли метаболизм митохондрий играет ключевую роль в процессе преждевременного старения. Методом QTL-анализа установить положение детерминант старения на хромосоме. Сконструировать конгенные линии крыс, несущие каждая по одной из выявленных детерминант первой хромосомы крыс OXYS и охарактеризовать их в разнообразных тестах. Картировать перенесенные в сконструированные конгенные линии WAG/OXYS-1.1 и WAG/OXYS-1.2 локусы первой хромосомы крыс OXYS

при помощи выявленных методом массового параллельного секвенирования (RNA-seq) однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и провести различного рода анализ этих данных.

В разделе Материалы и Методы работы содержится описание использованных методик, их много. Это как методы ЯМР (не только в плане томографии, но также в плане идентификации веществ по их спектрам, т.е. химический аспект), так и медицинские и поведенческие методы обследования. Есть раздел по чистой генетике, ПЦР полиморфных маркеров и полногеномному анализу экспрессии генов.

Проведенное в диссертации исследование содержания различных соединений фосфора, показало отсутствие связи ожидаемой связи концентрации креатин-фосфата в мозге от генотипа животных. Этот результат носит отрицательный характер. Отмечу, однако, высокое качество проведенного исследования (прослеживается высокая квалификация соавторов из НИОХ СОРАН). Проведенное исследование говорит о том, что вероятно роль митохондрий в старении в настоящее переоценена. С другой стороны, это результат работы только с одной моделью, поэтому вывод не носит окончательного характера.

Наиболее важная часть диссертации состоит в QTL-анализе потомства гибридов WAG/OXYS с помощью анализа сцепления набора признаков с микросателлитными маркерами первой хромосомы. Полученные крысы были охарактеризованы по многим медицинским и поведенческим параметрам. В тексте диссертации обсуждаются 6, которые дали отчетливые пики на хромосоме. В приложении диссертации приводятся данные о распределении детерминант 18 признаков по хромосоме. Замечу, что проведенные в диссертации обширные исследования показали, что не все признаки, которые используют в генетике поведения, являются информативными. Наиболее информативным оказался признак, связанный с заболеваемостью ретинопатией.

Далее автором были созданы линии, содержащие фрагменты первой хромосомы крыс OXYS на генетическом фоне линии WAG. Две из этих линий - WAG/OXYS-1.1 и WAG/OXYS-1.2 показывают, что у таких особей повышена частота развития ретинопатии и ранней катаракты. Локализация участков ДНК линии OXYS на первой хромосоме соответствует локализации найденных QTL. Эти линии были далее исследованы в клиническом (включая МРТ диагностику), гистологическом плане и поведенческих тестах. В целом, результаты этого обширного исследования подтвердили, что найденные участки хромосом OXYS действительно отвечают за развитие рассматриваемых заболеваний.

Полногеномный анализ экспрессии генов, проведенный в работе для линий WAG, WAG/OXYS-1.1, WAG/OXYS-1.2 и OXYS, позволил уточнить положение участков OXYS первой хромосомы в конгенных линиях. Результаты приведены на Рис.13 диссертации. Возможности полногеномного анализа позволили уточнить положение фрагментов на хромосоме; также стало очевидным, что в процессе переноса происходил кроссинговер внутри перенесенных участков. На основе данных полногеномного анализа было показано, что в участке WAG/OXYS-1.2 имеется несинонимическая нуклеотидная замена в гене *Arhgap33* (которая по данным биоинформатического анализа приводит к нефункциональности белка) линии OXYS относительно линии WAG и линии использованной в полногеномном проекте крысы. Поскольку при идентификации мутаций этого гена были существенным образом использованы методы биоинформатики, выводы которых имеют вероятностный характер, авторы дополнили этот анализ исследованием несинонимических замен между конгенными особями/линией OXYS против линии WAG среди известных генов, ответственных за болезнь Альцгеймера. Также авторы провели анализ транскриптома сетчатки и идентифицировали гены дифференциально экспрессирующиеся у WAG/OXYS-1.1 и WAG/OXYS-1.2 относительно OXYS.

Оценивая результаты, полученные в работе, я бы хотел выделить результат с геном *Arhgap33*; мне кажется, что это главное достижение диссертации и зря оно не вынесено в вывод. Думаю, что продолжение работы должно быть связано именно с этим геном.

По результатам диссертации имеется 12 публикаций в журналах ВАК, среди них 8 в зарубежных журналах с высоким фактором. Такой уровень публикаций является определенно достаточным для кандидатской диссертации. Публикации в высокорейтинговых международных научных журналах с достаточной **полнотой** отражают содержание диссертационной работы и позволяют оценить новизну работы, подтвердить ее практическую и научную значимость. Объем диссертации составляет 219 машинописных страниц, включая 17 рисунков и 7 таблиц. Список литературы содержит 742 ссылки.

**Теоретическая значимость** работы для науки связана с идентификацией гена, ответственно за преждевременное старение крыс OXYS. Довольно очевидно, что этот вывод не ограничивается только моделью крыс.

**Практическая ценность** диссертации, состоит в том, что сконструированные линии WAG/OXYS-1.1 и WAG/OXYS-1.2 могут быть использованы при поиске лекарственных средств, замедляющих старение.

**Личный вклад** диссертанта в работу высок.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.**

Автором проведена очень большая работа по характеристике линий WAG/OXYS-1.1 и WAG/OXYS-1.2 в отношении механизмов старения. На основе этих результатов определенно можно рекомендовать линию WAG/OXYS-1.2 для испытания лекарственных веществ, замедляющих старение млекопитающих.

## Оценка содержания диссертации, ее завершенность.

В работе приведен обширный и **ценный** экспериментальный материал генетическому контролю старения. Для удовлетворения требований к кандидатской диссертации хватило бы и части этого материала. Поэтому совершенно определенно можно утверждать, что как кандидатская диссертация эта работа уже давно является **завершенной**.

## Заключение

Диссертация является **законченным** научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. Полученные автором результаты **достоверны**, выводы и заключения **обоснованы**. Материалы диссертации **полно** отражены в публикациях автора, автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Работа **удовлетворяет** всем требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Елена Евгеньевна Корболина, несомненно, **заслуживает** присуждения ей искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

Омельянчук Леонид Владимирович,  
д.б.н., заведующий лабораторией генетики  
клеточного цикла Института молекулярной  
и клеточной биологии СО РАН,  
Новосибирск 630090, Лаврентьева 8/2,  
ome@mcb.nsc.ru

« 23 » ноября

2015 г.

