

Отзыв на диссертацию Помазного Михаила Юрьевича «Транскриптомный анализ трематоды *Opisthorchis felineus*», представляемую на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Работа Помазного М.Ю. посвящена исследованию транскриптома *Opisthorchis felineus* – анализу и сборке транскриптов белок-кодирующих генов, а также сравнению их экспрессии на двух стадиях развития: в метацеркарии и марите. Постановка задачи представляется актуальной не только с точки зрения медицинского значения выбранного организма, но и из-за его биологических особенностей. Хотя *Opisthorchis felineus* относится к относительно слабоизученной группе организмов, он представляет интерес в аспекте его паразитического образа жизни, а также многочисленных жизненных форм, часть которых связана с промежуточными хозяевами, а часть способна некоторое время существовать самостоятельно. Эти особенности должны иметь отражение в геноме, а также в регуляции генной экспрессии.

Работа по анализу транскриптома осуществлялась двумя способами – с помощью секвенирования индивидуальных клонов из ненормированной библиотеки кДНК, а также методом высокопроизводительного секвенирования. Результаты, полученные этими методами, оказались близкими, но по очевидным причинам основные результаты были получены массовым секвенированием на платформе Illumina. По результатам проведенного анализа были получены транскрипты, присутствующие на каждой из двух изученных стадий развития. Среди них были выделены и проанализированы наиболее сильно экспрессирующиеся транскрипты, кодирующие ряд белков, которые могут представлять интерес для диагностики или лечения описторхоза.

Представленная работа написана по не совсем классической схеме – результаты и обсуждение объединены в одну главу. Во Введении автор аргументирует актуальность проблемы, ставит основные вопросы, формулирует цели и задачи исследования, отмечает новизну, теоретическую и практическую значимость и апробацию в виде докладов на конференциях. По непонятной причине этот раздел не содержит список публикаций автора по теме диссертации.

Эта информация имеется только в конце автореферата и содержит две статьи в международных журналах и тезисы трех конференций.

Обзор литературы предоставляет информацию о систематике, жизненном цикле, ареале распространения и других биологических аспектах *Opisthorchis felineus* и близких видов. Также дается краткая справка о заболевании, вызываемом этим паразитом и о его взаимоотношениях с организмом хозяина. Кроме этого присутствует имеющаяся на текущий момент информация из близких видов, полученная с помощью геномных подходов, которая может использоваться как отправная точка в исследовании *Opisthorchis felineus*, а также для сравнительного анализа. В целом, эта глава содержит основную информацию, достаточную для погружения в тематику диссертационной работы.

Раздел Материалы и методы содержит описание молекулярно-биологических методов, использованных в работе, а также статистических и биоинформатических методах, использованных сборки и анализа транскриптома и филогенетического анализа.

Глава Результаты и Обсуждение описывает анализ полученных транскриптомов. Существенное внимание уделено анализу наиболее сильно экспрессирующихся генов во взрослой стадии. Как оказалось, эти гены имеют прямое отношение к образу жизни и условиям существования паразита в организме хозяина и направлены на подавление иммунного ответа против паразита, выживание в условиях гипоксии, а также на интенсивное размножение. В целом эти результаты хорошо соотносятся с данными, полученными ранее на близких видах, и представляют интерес для разработки диагностики и лечения описторхоза. Проведена классификация обнаруженных транскриптов с помощью инструментов Gene Ontology, и анализ представленных метаболических путей. Также проведен сравнительный анализ транскрипции на двух исследованных стадиях развития и филогенетическое исследование с использованием рибосомных белков.

Итог работы сформулирован в конце диссертации в виде 5 выводов, которые соответствуют поставленным задачам и отражают содержание работы. В конце рукописи присутствует список использованной литературы и приложения.

В целом представление материала позволяет сделать вывод о решающем вкладе автора в представляемую к защите работу. Содержательная часть проиллюстрирована рисунками и таблицами. Основные результаты опубликованы в статьях в научных журналах и представлены на конференциях. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертационной работы.

Основным достоинством работы является удачный выбор модельного объекта. Как упоминалось выше, *Opisthorchis felineus* представляет интерес не только с медицинской точки зрения, но и как интересный биологический объект, на котором можно исследовать целый ряд фундаментальных вопросов биологии. Проведенный биоинформатический анализ свидетельствует о высоком уровне профессиональной подготовленности автора.

По оформлению работы есть замечания. Работа оформлена крайне небрежно, содержит большое число ошибок и опечаток, которые во многих случаях затрудняют понимание. Текст на рисунках слишком мелкий, качество самих иллюстраций оставляет желать лучшего. В ряде мест текст перегружен подробностями, которые не важны для формулировки основной мысли автора, но отвлекают внимание читателя. Обращает на себя внимание использование разговорных оборотов и жаргонизмов. Некоторые аббревиатуры не расшифрованы.

На основании анализа транскриптомов в тексте говорится о редукции некоторых метаболических путей у *Opisthorchis felineus*. Это утверждение не вполне обоснованно, поскольку однозначно сделать этот вывод на основании транскриптомного анализа нельзя – для этого требуется секвенирование генома. Впрочем, соответствующий вывод сформулирован корректно.

Сравнительный анализ экспрессии на двух изученных стадиях развития проведен в сильно упрощенном виде и ограничивается транскриптами, специфичными для каждой из стадий. Такой подход не дает возможности в полной мере оценить регуляцию экспрессии генов при переходе от одной стадии развития к другой и оставляет существенное количество информации за рамками исследования. Причины такого представления не понятны, особенно с учетом биоинформатических навыков автора.

Несмотря на это, диссертационная работа Помазного М.Ю. «Транскриптомный анализ трематоды *Opisthorchis felineus*», представляемая на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика соответствует критериям и требованиям, установленным п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор Помазной Михаил Юрьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

к.б.н., зав. лабораторией геномики
Институт молекулярной и
клеточной биологии СО РАН

С.Н. Белякин

20.11.2015

пр-т ак. Лаврентьева 8/2
630090 Новосибирск
Тел.: (383) 363-90-42
e-mail: belyakin@mcb.nsc.ru

