

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
Помазного Михаила Юрьевича
«Транскриптомный анализ трематоды *Opisthorchis felineus*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности Генетика – 03.02.07

Диссертационная работа Помазного Михаила Юрьевича посвящена исследованиям, направленным на анализ особенностей генной организации паразита трематоды *O. felineus* в свете его образа жизни и специфики взаимодействия паразит-хозяин.

Несомненность актуальности такого исследования определяется важностью семейства описторхид для Сибирского региона, т.к. один из его представителей – *Opisthorchis felineus* – представляет существенную медицинскую проблему на территории России. Заражение этим паразитом приводит к опасному заболеванию – описторхозу, характеризующемуся повреждениями гепатобилиарной системы.

В работе Помазного Михаила Юрьевича была поставлена задача полнотранскриптомного анализа мРНК и метацеркарии *O. felineus*, включающая определение последовательности белок-кодирующих мРНК, биоинформатический анализ полученных транскриптов и проведение сравнительного анализа транскриптомных профилей двух стадий развития *O. felineus*.

Диссертационная работа Помазного Михаила Юрьевича состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Список литературы включает 183 наименования. Диссертация изложена на 75 страницах машинописного текста, содержит 7 таблиц и 20 рисунков. Дополнительный материал в виде таблицы, описывающей транскрипты с наибольшей экспрессией во взрослой стадии, приведен в Приложении.

Во «Введении» к диссертационной работе автором обоснована актуальность работы и кратко сформулированы ее задачи.

Литературный обзор в целом дает достаточно полную картину состояния молекулярно-биологических исследований *O. felineus* и вызываемого им заболевания. Он включает данные о жизненном цикле, ареале распространения, функциональной геномике и транскриптомике трематод, различных методах их исследования, а также результаты этих исследований.

Глава «Экспериментальная часть» написана ясным, четким языком. Описаны использованные методы, включающие сбор биологического материала, создание кДНК библиотеки и ее анализ методом секвенирования по Сэнгеру, создание и секвенирование библиотеки с помощью технологии Illumina Solexa, биоинформатический анализ последовательностей и сборки транскриптома, анализ экспрессии и другие методы. Все методики описаны так, что эксперименты могут быть воспроизведены.

В главе «Результаты и их обсуждение» описаны данные, полученные двумя технологиями секвенирования. Первая технология включала создание кДНК библиотеки с последующим ее секвенированием по Сэнгеру; с ее помощью были получены около 4 тысяч EST последовательностей. Вторая технология заключалась в массовом параллельном секвенировании на платформе Illumina HiSeq 2000; с ее помощью было получено около 100 млн прочтений кДНК взрослой стадии *O. felineus* и 50 млн прочтений кДНК метацеркарии. В результате сборки EST последовательностей получено 267 уникальных транскриптов, а в результате сборки NGS прочтений получено 12'665 уникальных белок-кодирующих транскриптов. В результате было установлено, что полученный транскриптом близок к полному, а исходя из отсутствующих консервативных генов, была обнаружена редукция таких систем как синтез полиаминов и метаболизм метионина. Далее, белок-кодирующие транскрипты были проаннотированы по гомологии с транскриптами и белками других организмов. В результате этого статистически значимые гомологи были обнаружены для 87,8% транскриптов. Путем поиска

консервативных доменов 57,1% транскриптов были проаннотированы в терминах Генной онтологии, а для 46% транскриптов была установлена ортология с помощью базы данных KEGG.

Используя количественную информацию об экспрессии генов, следующую из данных секвенирования, были установлены транскрипты с наибольшей экспрессией в каждой из стадий жизненного цикла. Во взрослой стадии среди 20 транскриптов с наибольшим значением FPKM были найдены транскрипты катепсина F, миоглобина, белка оболочки яйца и глутатион трансферазы. Автор особенно подчеркивает транскрипт, кодирующий гомолог HDM белка *F. hepatica*, для которого показано множество иммуномодуляторных эффектов. В метацеркарии, среди наиболее экспрессирующихся генов были обнаружены, кодирующие белки домашнего хозяйства, такие как рибосомальные белки (11 из 20 транскриптов с наибольшей экспрессией), а также убиквитин, что показывает метаболическую специализацию метацеркарии, отличную от мариты.

Показано, что *O. felineus* не экспрессирует PEX белки, участвующие в формировании пероксисом. Обнаружены новые гранулиноподобные белки, не имеющие ортологов у родственных описторхид. При анализе экспрессии полученных транскриптов были идентифицированы 11'114 генов, экспрессирующихся в обеих стадиях и 903 и 648 гена, экспрессирующихся только в марите или метацеркарии соответственно. В результате анализа рибосомальных белков выявлено, что *O. felineus* и *C. sinensis* филогенетически ближе друг к другу, чем каждый из них к *O. viverrini*.

В данной работе впервые отсеквенирован и аннотирован полный транскриптом трематоды *O. felineus* на стадиях мариты и метацеркарии. Данная работа, несомненно, отличается новизной и значимостью полученных результатов как для понимания теоретических основ установления структуры генов и белков *O. felineus* и подобных ему организмов, так и для возможного использования полученных результатов в практических целях. Работу Помазного Михаила Юрьевича можно

рассматривать как важный этап в развитии теоретических и экспериментальных основ структурно-функционального анализа генов и белков *O. felineus* и подобных организмов.

К недостаткам работы следует отнести погрешности в оформлении работы: это касается отсутствия некоторого числа запятых, не совсем удачных фраз и выражений. В подписях к некоторым рисункам не хватает информации об использованных методах анализа. Тем не менее, эти замечания не умаляют достоинств диссертационной работы

Работа Помазного Михаила Юрьевича выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровнях. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации и опубликованным автором работам по данному вопросу.

Работа Помазного Михаила Юрьевича является завершенным трудом. Результаты работы могут быть использованы в очень большом числе институтов биохимического, молекулярно-биологического, биологического и медицинского профиля, как в России, так и за рубежом.

По актуальности темы, новизне полученных результатов, их теоретической и практической значимости диссертационная работа Помазного Михаила Юрьевича соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности Генетика – 03.02.07

Профессор, доктор химических наук
Зав. лаборатории ферментов репарации
ИХБФМ СО РАН Г. А. Невинский
10.11.2015

- Невинский Георгий Александрович
- Новосибирск 630090, проспект Лаврентьева, 8
Тел. +7-383-363-5126,



•nevinsky@niboch.nsc.ru

• Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН

• доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией