

ОТЗЫВ

официального оппонента Бекетова Сергея Валериевича на диссертационную работу Злобина Александра Сергеевича на тему «Изучение генетического контроля мясной продуктивности овец с использованием современных методов количественной генетики», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика

АКТУАЛЬНОСТЬ

Россия в силу своего географического положения и обширной территории отличается большим разнообразием трансграничных и местных пород и популяций овец. При этом в овцеводстве нашей страны традиционно преобладают шерстно-мясные и мясо-шерстные породы. Так, из более, чем сорока отечественных пород овец лишь две относятся к мясо-сальным (эдильбаевская и калмыцкая) и до сих пор нет ни одной мясной породы.

В то же время на фоне уменьшения спроса на овечью шерсть и объемов ее производства даже в таких странах как Австралия и Новая Зеландия (с 1990 по 2016 гг. снижение по чистому волокну составило, соответственно, 50,4% и 51,4%, в России – 74,6%), мировая стратегия развития овцеводства нацелена на развитие мясного направления, что с учетом дефицита экспортного поголовья требует максимально возможного использования потенциала мясной продуктивности имеющихся российских пород. В этом контексте GWAS становится эффективным инструментом для отбора животных при проведении целенаправленной маркерно-ориентированной селекции в овцеводстве.

Таким образом, заявленная Александром Сергеевичем Злобиным в диссертации тема по изучению генетического контроля мясной продуктивности овец с использованием современных методов количественной генетики является актуальной, а решение поставленных в ней задач имеет не только научное, но и практическое значение.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Автором диссертации была разработана платформа GWASMAP|ovis, с использованием которой обнаружено 12 локусов, ассоциированных с признаками мясной продуктивности овец, в т. ч. 8 новых. Для новых локусов было приоритизировано 13 генов. Один из новых обнаруженных локусов был реплицирован с использованием российской выборки овец. Для найденных локусов выявлено два связанных графа функционального взаимодействия. С применением GWASMAP|ovis впервые проведен анализ колокализации для овец.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Обнаруженные А.С. Злобиным локусы, ассоциированные с мясной продуктивностью овец, расширяют знания о генетической регуляции признаков этого комплексного показателя. На основе установленной сети взаимодействия генов мясной продуктивности автором выдвинута гипотеза о их функциональной и биологической связанности через механизмы зависимой регуляции экспрессии.

Разработанная диссертантом уникальная платформа GWASMAP|ovis, позволяет проводить эффективный анализ полногеномных ассоциаций различных признаков овец и может применяться на практике для определения племенной ценности животных.

Таким образом, полученные автором результаты представляют интерес как для фундаментальных исследований генома овцы, так и для практической селекции.

СТРУКТУРА И ОБЪЕМ ДИССЕРТАЦИИ

Работа состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Материал изложен на 111 страницах компьютерного текста, иллюстрирован 6 таблицами и 17 рисунками. Список литературы включает 137 источников.

Оформление соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертационным работам.

ОСНОВНЫЕ НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

А.С. Злобиным разработана платформа GWAS-MAP|ovis для агрегации, унификации и визуализации результатов исследований полногеномных ассоциаций у овец. Созданная в ее структуре база данных аккумулирует информацию о 198 генах (172 уникальных) и 163 локусах количественных признаков (130 уникальных), связанных с мясной продуктивностью овец и в отличие от имеющейся международной базы данных «AnimalQTLdb», обладает рядом преимуществ. Это наличие полной информации об эффекторном аллеле, присутствие только значимо ассоциированных локусов с указанием точной физической позиции в геноме для однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), возможностью пополнения данных, а также удобством поиска ОНП и/или генов,

С использованием платформы GWAS-MAP|ovis для 3 многомерных признаков, связанных с массой, жиром и мышцами (данные Bolormaa et al., 2016) автором диссертации было найдено 12 значимо ($p\text{-value} < 3.38 \times 10^{-8}$) ассоциированных локусов, девять из которых были ассоциированы с массой и три с жиром.

По результатам приоритизации и аннотации генов было выявлено 13 генов-кандидатов для 8 обнаруженных новых локусов. Наибольшая корреляция отмечалась между локусами на 6-й (*LCORL*) и 11-й (*SLC16A11*)

хромосомах ($r=0,74$). Многомерный анализ российской популяции овец ($N=108$) подтвердил наличие в ней 2 локусов из базы данных QTL: rs401990068 (гены FAM3C и WNT16) и rs401834107 (ген LCORL), а применение анализа колокализации показало плейотропный эффект локуса rs401834107 (ген LCORL) на признаки мясной продуктивности овец.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диссертационная работа выполнена с применением современных методов количественной генетики и ДНК-микрочиповых технологий. Истинность полученных результатов подтверждена обращением к атрибутированным базам данных и статистической обработкой с использованием современного программного обеспечения.

Так, в качестве основы для создания платформы GWAS-MAP_{ovis} для сбора и хранения суммарных статистик полногеномных исследований признаков овец была применена платформа GWAS-MAP для человека. Для наполнения платформы и проведения многомерного анализа использованы суммарные статистики (z-score) для 510174 ОНП из статьи Bolormaa et al., 2016, включающей выборку 10613 овец 9 различных пород. Для извлечения короткого резюме о гене и его функции применена база данных Uniprot (<http://www.uniprot.org>). Функциональная аннотация и приоритизация локусов, найденных при многомерном анализе, была определена с использованием инструмента Ensembl Variant Effect Predictor (VEP).

При проведении полногеномных исследований ассоциаций (ПГИА) была использована выборка 122 животных ВИЖ им. Л.К. Эрнста (п. Дубровицы, Московская обл.), представленной овцами романовской породы, породы катадин, архарами (*Ovis ammon*) и гибридами различной кровности от скрещивания овец романовской породы и катадинов, романовской породы и архара, а также гибридами романовской породы и породы катадин с муфлоном (*Ovis gmelini*).

Для генотипирования SNP-маркеров был использован ДНК-чип высокой плотности Ovine Infinium® HD SNP Bead-Chip array (606K) (Illumina, Inc. США), содержащий более 600 тыс. SNP. По фенотипам овец были доступны различные промеры туловища в разные промежутки жизни животного (6 дней, 42 дня и 3 месяца после рождения). Контроль качества полученных генотипов был осуществлен с использованием программного обеспечения plink 1.9.

Для проведения ПГИА была использована линейная смешанная модель, имплементированная в программном обеспечении GEMMA. Матрица родства была оценена с помощью EMMAX. Для мета-анализа было использовано программное обеспечение METAL.

АПРОБАЦИЯ

Основные положения диссертации были представлены на 6 международных научно-практических конференциях и отражены в 3

научных публикациях в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science. По итогам работы зарегистрировано две базы данных. Материалы диссертации вошли в отчет по гранту Российского Научного Фонда № 18-16-00079 «Полногеномный анализ ассоциаций показателей роста, развития и частоты рекомбинации в ресурсных популяциях рода *Ovis*, полученных при межвидовом и межпородном скрещивании».

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Созданные база данных «Генетические маркеры признаков роста, каркаса и мясной продуктивности у овец» и платформа GWAS-MAP|ovis зарегистрирована в государственном реестре российских программ для электронных вычислительных машин и баз данных и безусловно востребована. Веб-интерфейс разработанной А.С. Злобиным платформы GWAS-MAP|ovis находится в открытом доступе по адресу <https://pheligeovis.icgbio.ru/>, что позволяет всем заинтересованным исследователям проводить различные типы анализов, включая визуализацию результатов, совместный анализ (мета-анализ), колокализацию, многомерный анализ и другие.

Теоретические и практические наработки диссертации могут использоваться биоинформатиками, генетиками, селекционерами, а также в процессе подготовки специалистов по специальностям молекулярно-биологического и селекционно-генетического направлений.

ЗАМЕЧАНИЯ

В качестве замечаний по диссертационной работе А.С. Злобина можно отметить следующее:

1. В тексте диссертации есть упоминание о том, что в российской популяции овец «... было подтверждено 2 локуса: один известный rs401834107 (ген *LCORL*) и один, впервые обнаруженный в данной диссертационной работе rs401990068 (*FAM3C/WNT16*)» (С. 87 диссертации). Но ведь эта популяция неоднородна, отсюда становится непонятным у кого и как часто встречаются упомянутые локусы, ассоциированные с мясной продуктивностью: у романовской овцы, катадина (американская порода овец), диких муфлона и архара или у их гибридов.

2. К сожалению, в диссертации не удалось найти результаты оценки племенной ценности животных, хотя автор указывает, что для оценки этого показателя были использованы «... только гибриды, полученные путем скрещивания с архаром (N=94) для уменьшения влияния популяционной стратификации» (С. 58 диссертации).

3. Диссертантом неверно указаны терминологические наименования. Например, упоминаемые автором каркас – это масса туши, экономический признак – это хозяйственно-ценный признак, экономически важные животные – это сельскохозяйственные животные.

4. Несколько претензионно звучит выражение «В результате первого в мире применения анализа колокализации у овец ...», хотя его можно спокойно заменить на «В результате впервые примененного анализа колокализации ...» (С. 91 диссертации). Ведь это же не первый полет человека в космос.

Однако приведенные замечания и комментарии несущественны и несколько не снижают научную ценность и практическое значение диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Злобина Александра Сергеевича «Изучение генетического контроля мясной продуктивности овец с использованием современных методов количественной генетики» представляет собой заверченный научный труд. Тема исследования актуальна. Поставленные диссертантом цели и задачи выполнены, а разработанные информационные базы данных и результаты геномных анализов имеют важное практическое значение.

Основные этапы исследований, выводы и результаты отражены в автореферате, содержание которого соответствует структуре диссертации.

Диссертация полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям согласно Положению о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор – Злобин Александр Сергеевич заслуживает присуждения ему степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Бекетов Сергей Валериевич
доктор биологических наук,

ведущий научный сотрудник лаборатории сравнительной генетики животных



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)

ГСП-1, 119991, г. Москва

ул. Губкина, 3

тел./факс: +7 (499) 135-21-81

E-mail: svbeketov@gmail.com

Подпись С.В. Бекетова заверяю

Ю.А. Столповский
доктор биологических наук,
заместитель директора ФГБУ ИОГен РАН
по научной работе



07.03.2023