

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук Денисковой Татьяны Евгеньевны на диссертационную работу **Злобина Александра Сергеевича** по теме: «Изучение генетического контроля мясной продуктивности овец с использованием современных методов количественной генетики», представленную в диссертационный совет 24.1.239.01 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика

Актуальность избранной темы диссертации.

Увеличение мясной продуктивности сельскохозяйственных животных, в том числе овец, – это важная задача для обеспечения продовольственной безопасности нашей страны.

Баранина – это полноценный пищевой продукт, в состав которого входят витамины группы В, конъюгированная линолевая кислота, омега-3 жирные кислоты, фтор, железо и цинк. При этом баранина содержит в 2-3 раза меньше жира, чем свинина; в 2,5 и в 4 раза меньше холестерина, чем говядина и свинина, соответственно. Баранина считается диетическим продуктом, оказывающим положительное влияние на работу поджелудочной железы, способствующим профилактике сахарного диабета и имеющим выраженные антисклеротические свойства.

Несмотря на то, что потребность населения в качественной баранине растет с каждым годом, в России производство баранины заметно отстает в своих темпах по сравнению с другими сегментами мясной индустрии.

В связи с этим, увеличение мясной продуктивности овец с использованием современных генетических технологий, способствующих отбору желательных генотипов и раскрытию генетического потенциала у мясных ягнят, весьма актуально.

Мясная продуктивность – это сложный количественный признак, результат сложных взаимодействий между генетическими факторами, потреблением питательных веществ и функциями эндокринной системы.

Учитывая значение этого продуктивного признака, поиск генетических механизмов, влияющих на его формирование, вызывает повышенный научный интерес. Выявление генов-кандидатов и локусов количественных признаков, ассоциированных с показателями мясной продуктивности овец, находится в числе наиболее востребованных исследовательских работ во всем мире. Во многих странах (Новая Зеландия, Китай, Австралия, Ирландия) маркер-ориентированная селекция активно ведется на уровне рутинного тестирования.

В настоящее время в базе данных QTL овец содержится информация о 4207 QTL из 221 публикаций (для сравнения у крупного рогатого скота – 192925 QTL из 1103 публикаций, у свиней – 35,384 QTL из 762 публикаций).

Большинство QTL овец было выявлено с использованием микросателлитов и имеют большой доверительный интервал, что затрудняет идентификацию соответствующих маркерных генов.

Разработка ДНК-чипа сделала возможным проведение одновременного анализа десятков и сотен тысяч SNP, равномерно распределенных по всему геному, что обеспечивает существенно большее по сравнению с микросателлитами разрешение генетической карты. Это, в свою очередь, обеспечивает более высокую точность нахождения локализации QTL.

В связи с этим, тема диссертационной работы Злобина Александра Сергеевича **актуальна и значима**, так как обобщение и систематизация известных генов -кандидатов, а также поиск новых локусов количественных признаков с последующим проведением их валидации важны для более углубленного понимания сложных генетических механизмов, лежащих в основе формирования мясной продуктивности овец, а также для создания научной базы для оценки генетического потенциала овец в раннем возрасте, а полученные результаты имеют перспективы для прикладного внедрения в маркер-ориентированную селекцию.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Диссертация Злобина Александра Сергеевича является завершенным исследованием. Диссертантом были изучены теоретические сведения и проанализированы данные биоинформационного анализа. Исследования, которые легли в основу диссертационной работы, были выполнены на 122 овцах смешанного происхождения и включали несколько этапов. На первом этапе создана платформа для комплексного анализа результатов полногеномных исследований ассоциаций и база данных QTL. На втором этапе проведен многомерный анализ ассоциаций признаков мясной продуктивности из платформы GWAS-MAP|ovis, в результате чего выявлены гены-кандидаты мясной продуктивности овец. На третьем этапе выполнено подтверждение идентифицированных локусов на популяции овец и проведен анализ колокализации. На заключительном этапе выполнения работы проведена оценка племенной ценности признаков мясной продуктивности на российской выборке овец.

Положения, выносимые автором на защиту, выводы и заключение логически вытекают из материалов, представленных в диссертации. Задачи, поставленные в диссертации, выполнены в полной мере в соответствии с заявленной темой.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается согласованностью с ранее опубликованными работами других исследователей и валидацией установленных генетических ассоциаций с помощью многомерного анализа на выборке экспериментальных овец. Все исследования проведены на высоком методическом уровне. Статистическая биоинформационная обработка результатов проведена по общепринятым методикам.

Научная новизна исследований и практическая значимость выводов и рекомендаций заключаются в том, что впервые создана онлайн платформа GWAS-MAP|ovis (доступна по ссылке: <https://pheligeovis.icgbio.ru/>), предназначенная для хранения, унификации и анализа результатов полногеномных ассоциативных исследований признаков мясной продуктивности овец.

Продемонстрирована эффективность созданной платформы GWAS-MAP|ovis для проведения различных генетических анализов и для поиска потенциальных маркеров для создания моделей маркер-ориентированной селекции. Создана база данных локусов и генов, ассоциированных с признаками мясной продуктивности у овец. Впервые проведен анализ колокализации для овец.

Из 8 идентифицированных локусов 2 локуса, в том числе: rs401990068 (гены *FAM3C* и *WNT16*) и rs401834107 (ген *LCORL*), были валидированы на популяции овец смешанного происхождения. Идентифицированные локусы рекомендованы для включения в системы маркер-ориентированной селекции на овцеводческих популяциях.

Полученные результаты имеют практический потенциал, так как предложены рекомендации для использования в маркер-ориентированной селекции овец с целью увеличения их мясной продуктивности.

Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней».

Диссертация и автореферат соответствуют критериям «Положения о присуждении ученых степеней». Диссертация Злобина Александра Сергеевича обладает внутренним единством и содержит новые научные результаты и положения, выносимые на защиту, а именно: локусы на хромосомах 1 (rs193632759), 2 (rs428034699), 3 (rs428034699, rs403766990, rs399851221) 4 (rs401990068), 5 (rs408893215) и 23 (rs418394153) овец, ассоциированы с признаками мясной продуктивности; гены *SLC16A11*, *GHR*,

MEG8_2 и *SHISAL1*, расположенные в локусах на хромосомах 11, 16, 18 и 3, соответственно, и гены *LCORL*, *FAM3C/WNT16* на хромосоме 6, предложенные в качестве генов-кандидатов, вовлеченных в генетический контроль признаков мясной продуктивности овец, функционально связаны; ген *LCORL* (SNP rs401834107) имеет плеiotропный эффект на признаки, связанные с показателями мясной продуктивности у овец.

Автореферат содержит основные разделы диссертации и раскрывает ее научные положения. Выводы и заключение, изложенные в автореферате и диссертации, идентичны.

Полнота опубликованных результатов.

Результаты исследований были представлены и обсуждены на таких научных конференциях, как «Достижения в генетике, селекции и воспроизводстве сельскохозяйственных животных» (г. Санкт-Петербург, 2019), «Генетика, селекция и биотехнология животных: на пути к совершенству» (г. Пушкин, 2020), Bioinformatics of genome regulation and structure/systems biology (bgrs/sb-2020» (г. Новосибирск, 2020), First ESDAR-ECAR Online Conference (2021), 10th Moscow Conference on Computational Molecular Biology MCCMB21 (г. Москва, 2021).

Всего соискателем по теме диссертации было опубликовано 3 научные работы в таких журналах, рецензируемых в базах данных «Скопус» (Scopus) и «Сеть науки» (Web of Science), как «Вавиловский журнал генетики и селекции», «Genes» и «Arch. Anim. Breed».

Кроме того, по теме диссертации зарегистрированы две базы данных в государственном реестре российских программ для электронных вычислительных машин и баз данных под идентификационными номерами 2019621453 и 2021620564.

Публикации соответствуют материалам, представленным в диссертации.

Оценка личного вклада соискателя в разработку научной проблемы, репрезентативность эмпирического материала.

Диссертационная работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, написана научным языком.

В рамках выполнения научно- квалификационной работы Злобин А.С. провел анализ современного состояния изучаемой тематики, обозначил задачи исследования, выполнил биоинформационную часть и сформулировал выводы. Диссертация была подготовлена автором самостоятельно, что не вызывает сомнений.

Оценка содержания и завершенности диссертации.

Диссертационная работы Злобина Александра Сергеевича изложена на 111 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, список литературы. Диссертация содержит 6 таблиц, 17 рисунков и приложения, включающего 5 дополнительных таблиц и 4 дополнительных рисунка. Список использованной литературы включает 137 источников.

В разделе «Введение» представлены сведения об актуальности темы и степени её разработанности, цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методы и методология исследования, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов. Обозначен личный вклад соискателя, перечислены публикации по теме работы, приведены сведения об объеме и структуре диссертации.

В разделе «Обзор литературы» обобщены и изложены литературные данные по состоянию изучаемой проблематики, в том числе дана краткая характеристика существующих форм селекции животных. Дана сжатая информация о современном состоянии овцеводства в целом и в России в частности. Представлен краткий обзор генов-кандидатов, обуславливающих

мясную продуктивность овец. Представлено описание подходов по проведению полногеномных исследований ассоциаций с пояснениями по анализу и интерпретации полученных результатов, по использованию GWAS в мясном овцеводстве. Обозначены решения для хранения и анализа результатов GWAS. Раздел соответствует и раскрывает тему диссертационной работы.

Раздел «Материалы и методы» включает характеристику созданной платформы GWAS-MAP|ovis. Представлено описание используемых статистических подходов для многомерного анализа. Дана информация о том, как была проведена функциональная аннотация идентифицированных локусов. Дана краткая характеристика изучаемой выборки овец, размеров в 122 голов. Представлена информация о критериях контроля качества генотипов и фенотипов овец для проведения GWAS.

Раздел «Результаты исследований» содержит данные, полученные в ходе выполнения диссертационной работы. Представлена структура платформы для хранения результатов полногеномных ассоциативных исследований. Обозначены этапы и принципы создания базы данных QTL. Представлен список приоритизированных генов, идентифицированных путем проведения многомерного анализа ассоциаций признаков мясной продуктивности из платформы GWAS-MAP|ovis. Подтверждены 6 из 8 обнаруженных локусов и локусов из базы данных QTL на выборке овец. Выполнена оценка племенной ценности признаков мясной продуктивности на изучаемой выборке овец.

В разделе «Обсуждение результатов» собственные результаты обобщаются и анализируются в разрезе дискуссии с иными научными источниками.

В разделе «Заключение» представлено обобщение наиболее значимых результатов и подведены итоги работы, которые логически вытекают из анализа полученных результатов и являются аргументированными ответами на заявленные задачи диссертационной работы. Кроме того, в разделе даны рекомендации по использованию научных результатов, в частности

селекционерам -овцеводам рекомендуется использовать идентифицированные локусы в качестве ДНК-маркеров для увеличения мясной продуктивности овец.

В разделе «Выводы» суммированы выводы, вытекающих из основных положений, выносимых на защиту, и результатов проведенной работы.

Наряду с положительной оценкой диссертационной работы **Злобина Александра Сергеевича** считаю возможным обратить внимание на некоторые замечания и высказать отдельные пожелания:

1. Интересно было бы получить комментарий, почему важно хранить именно суммарные статистики проведенных работ по картированию QTL, а не только их непосредственные результаты?

2. Платформа GWASMAP|ovis, представленная как один из результатов собственных исследований, была создана исключительно на основе данных Bolormaa et al 2016? Или были привлечены и проанализированы иные литературные источники?

3. В качестве пожелания на будущее рекомендуется включать схему исследования в квалификационные работы.

4. Интересно узнать, почему автор использовал именно инструмент VEP для проведения функциональной аннотации, а не другой инструмент геномного браузера Ensembl (в частности, BioMart)?

5. При сведении результатов в базу данных платформы GWAS-MAP|ovis обращалось ли внимание на версию сборки генома, по которой авторы публикаций проводили аннотацию?

6. Почему был выбран порог именно в 500 тыс. п.н. от SNP для приоритезации генов - кандидатов? Проводились ли ранее работы с установлением такого порога (возможно, имеются ссылки на литературные источники)? Многие исследователи рекомендуют устанавливать «окно» от ± 200 до ± 400 тыс. п.н. от идентифицированного SNP.

7. Почему автор не использовал в своей работе онлайн ресурс DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) для

изучения метаболических путей, в которых задействованы искомые гены-кандидаты, и для построения функциональной сети взаимодействий этих генов, ассоциированных с мясной продуктивностью?

8. В дополнительных таблицах 1-3 желательно было бы указать стандартную ошибку средних арифметических значений фенотипических показателей.

9. На рисунке 8 имеются красные квадраты, а в примечании к рисунку отсутствует информация о том, что эти фигуры выделяют. Далее по тексту упоминается формирование двух кластеров. Тем не менее, желательно было бы добавить соответствующее разъяснение в примечание к рисунку.

10. В тексте имеется ряд опечаток и неточностей. Так, например, породы животных, упомянутые в середине предложений, написаны с заглавной буквы; вместо термина «коровы» в научных работах следует использовать термин «крупный рогатый скот».

11. Рекомендуются использовать общепринятые сокращения для ряда терминов (полногеномное исследование ассоциаций – GWAS, маркер-ориентированная селекция – MAS).

Следует подчеркнуть, что вышеперечисленные замечания не снижают научную и практическую значимость диссертационной работы.

Заключение

Диссертация **Злобина Александра Сергеевича** по теме: «Изучение генетического контроля мясной продуктивности овец с использованием современных методов количественной генетики», представленная в диссертационный совет 24.1.239.01 на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно, на высоком методическом уровне.

Представленная диссертационная работа соответствует паспорту

специальности **1.5.7. – Генетика** и имеет научное и практическое значение для внедрения маркер-ориентированной селекции по идентифицированным локусам для повышения мясной продуктивности овец.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор Злобин Александр Сергеевич заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика.

Официальный оппонент:

Гражданин Российской Федерации

Кандидат биологических наук

(по специальности 03.02.07- Генетика, 2012),

Ведущий научный сотрудник

Группа генетики и геномики мелкого рогатого скота

ФГБНУ «Федеральный исследовательский

центр животноводства – ВИЖ имени

академика Л.К. Эрнста»

Денискова Т. Е.

«30» января 2023 г.

Подпись Т. Е. Денисковой заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «Федеральный

исследовательский центр животноводства

ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

кандидат сельскохозяйственных наук

Сивкин Н.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки России)

Почтовый адрес: 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, дом 60

Тел. моб.: + 7 (916) 914-20-17

Сайт: <https://www.vij.ru>

E-mail: priemnaya-vij@mail.ru