

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук

Маркова Андрея Владимировича

на диссертационную работу

Чадаевой Ирины Витальевны «Профили экспрессии генов в отделах мозга ручных и агрессивных серых крыс», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика

Актуальность диссертационной работы

Диссертационное исследование И. В. Чадаевой посвящено изучению изменения транскриптома в разных отделах головного мозга серых крыс в ходе их одомашнивания с последующим выявлением ключевых генных ансамблей, чувствительных к данному процессу. Актуальность проведенного исследования не вызывает сомнения, поскольку понимание тонких механизмов одомашнивания и лабораторизации животных крайне важно, как для фундаментального понимания регулома, контролирующего изменения в тканях мозга животных в ходе искусственного отбора по поведению, так и с практической точки зрения, поскольку данная информация может быть использована в области сельского хозяйства или для разработки новых животных моделей для медико-биологической отрасли. Несмотря на активное исследование механизмов одомашнивания животных, к настоящему моменту накоплен лишь небольшой объем данных о генах, чувствительных к рассматриваемому процессу, не позволяющих реконструировать молекулярный механизм одомашнивания в полном объеме, что определяет высокую актуальность настоящего исследования.

Научная новизна исследования

Новизна данного исследования основана на комплексном анализе геномных изменений на уровне транскриптома в тканях головного мозга, проведенном впервые на уникальной модели ручных и агрессивных серых крыс, выведенных в ИЦиГ СО РАН в результате многолетней селекции в течение более чем 50 лет. Чадаевой И. В. получены новые оригинальные данные, значительно расширяющие знания о молекулярных механизмах одомашнивания крыс, ранее исследованных лишь на уровне физиологических и поведенческих характеристик. Диссертантом впервые выявлен профиль дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ; ручные vs агрессивные животные) в четырех ключевых отделах мозга, участвующих в контроле агрессивного поведения у млекопитающих, включая гипоталамус, гиппокамп, серое вещество периакведуктума и покрышку среднего мозга. На основе полученных транскриптомных данных с помощью методов компьютерной биологии впервые реконструирована сетевая генная структура, связанная с одомашниванием, и выявлены ключевые гены, изменение экспрессии которых было вызвано искусственным отбором по поведенческой реакции крыс на человека. Кроме этого, на основе полученных данных Чадаевой И. В. впервые удалось идентифицировать общие гены-ортологи, чувствительные к искусственному отбору, у различных домашних животных, что дает ценную информацию для выявления закономерностей генетических основ одомашнивания.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Диссертационная работа Чадаевой И. В. выполнена на высоком методическом уровне с привлечением широкого спектра современных молекулярно-биологических и

биоинформатических методов. Высокая степень достоверности и обоснованности выводов обусловлена адекватностью использованных подходов. Так, идентификация ключевых генов, ассоциированных с доместикацией, была выполнена с использованием комплексного подхода, включающего полногеномное РНК секвенирование, идентификацию ДЭГ, их функциональную аннотацию, анализ их экспрессии методом главных компонент, реконструкцию на основе выявленных ДЭГ генной ассоциативной сети и верификацию полученных данных с помощью ПЦР в реальном времени. Объем анализируемых выборок являлся достаточным.

Сделанные диссертантом выводы обоснованы и соответствуют поставленным задачам. Выводы и выносимые на защиту положения основаны на полученных результатах. Новизна и актуальность исследования не вызывают сомнений.

Материалы диссертационной работы представлены в 7 статьях из перечня журналов, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации материалов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus и РИНЦ. При этом в 3 из 7 представленных публикаций Чадаева И. В. является первым автором. Промежуточные результаты доложены диссертантом на ключевых отечественных и международных (базирующихся в РФ) конференциях.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Чадаевой И. В. построена в классическом стиле, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения, содержащего исчерпывающую информацию о биологических функциях ДЭГ, выявленных в ходе исследования. Работа изложена на 184 страницах, содержит 17 рисунков, 12 таблиц, включая 1 таблицу из приложения.

Во введении диссертантом обозначены актуальность исследования, его научная новизна, теоретическая и практическая значимость, дана краткая характеристика методов диссертационного исследования, приведен личный вклад автора, апробация результатов, список публикаций по теме диссертации и благодарности. Сформулированные Чадаевой И. В. задачи исследования адекватны и соответствуют поставленной цели.

Обзор литературы содержит исчерпывающий материал, знакомящий читателя с ключевыми аспектами одомашнивания животных, включая общие сведения, проведенные к настоящему времени полногеномные исследования доместикации, подробно описаны модельные объекты и процесс их селекции, включая серых крыс, являющихся ключевой моделью данной работы. Кроме этого, в обзоре литературы автор описывает накопленные данные по физиологическим и поведенческим характеристикам ручных и агрессивных крыс, дает информацию о уже проведенных исследованиях экспрессии генов, ассоциированных с одомашниванием, и участии разных отделов мозга в контроле агрессивного поведения у млекопитающих. Стоит отметить очень хороший научный язык, используемый при написании обзора литературы, и хорошо выстроенную структуру данной главы. Таким образом, обзор литературы свидетельствует о глубоком знании автором современных данных по исследуемой проблеме и логично подводит к формулировке цели исследования.

В главе Материалы и методы подробно описаны все технические детали проведенного исследования. Как уже отмечалось выше, в работе использован широкий

набор современных методик исследования, включая RNA-seq и биоинформатические методы его анализа. Результаты были валидированы с использованием метода полуколичественной ПЦР в режиме реального времени, приведены последовательности всех используемых в исследовании праймеров таргетных и референсных генов. Автором описаны и обоснованы методы статистической обработки полученных данных.

Третья глава диссертации подробно описывает собственные результаты исследования, хорошо проиллюстрирована и структурирована. В четвертой главе автор подробно анализирует полученные данные с привлечением опубликованных результатов, а в Заключение подводит итог всех исследований и формирует ключевые положения диссертационной работы. Выводы отражают основные результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, и соответствуют поставленной цели и научным задачам. Список литературы включает 236 источников. Таким образом, настоящее исследование выполнено и оформлено согласно требованиям, предъявляемым к диссертационным работам. Автореферат соответствует тексту диссертации, публикации автора в полном объеме отражают основное содержание работы.

Вопросы и замечания по диссертации

В ходе анализа настоящей диссертационной работы возникли следующие вопросы и замечания дискуссионного характера.

- (1) Почему для верификации дифференциальной экспрессии генов автором были отобраны лишь *Apobec1*, *Ascl3* и *Defb17*, up-регулируемые в тканях мозга ручных крыс, и были проигнорированы гены, экспрессия которых наоборот была подавлена в результате доместикации? Эти данные могли бы значительно усилить верификационный блок исследования.
- (2) Почему при построении генной ассоциативной сети авторами была использована база данных STRING, более подходящая для анализа протеомных данных, а не GeneMANIA, разработанная для анализа генных профилей? При использовании GeneMANIA генная сеть характеризовалась бы большим количеством связей, что позволило бы провести топологический анализ сети и выявить хабовые гены с использованием более точных алгоритмов.
- (3) Из текста диссертации осталось непонятным, почему функциональная аннотация ДЭГ с помощью DAVID (Рис. 13) и STRING (Табл. 7) дала отличающиеся результаты, хотя обе платформы обращаются к одним и тем же базам данных Gene Ontology и KEGG?
- (4) В Табл. 7 отсутствует столбец с *p*-значениями, отсутствует web-ссылка на базу данных RatDEGdb, в тексте ряд конструкций не обособлен.

Вышеизложенные замечания и вопросы не являются существенными и не снижают значимости проведенного исследования. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертационной работы нет.

Заключение

Диссертационная работа Чадаевой Ирины Витальевны «Профили экспрессии генов в отделах мозга ручных и агрессивных серых крыс» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится

решение научной задачи по выявлению регулома, ассоциированного с доместикацией серых крыс, имеющей существенное значение для генетики.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте изложения материалов работы в печатных изданиях диссертационная работа Чадаевой Ирины Витальевны полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (с последующими редакциями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика.



к.б.н.

Марков Андрей Владимирович

Старший научный сотрудник лаборатории биохимии нуклеиновых кислот
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)

630090, г. Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, 8

Телефон 8 (383) 363-51-61

e-mail: andmrkv@gmail.com

14.10.2024

