

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИЦИГ СО РАН)

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИЦИГ СО РАН, академик РАН
Н. А. Колчанов
« 22 » апреля 2015 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации - Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук
на диссертационную работу Алены Дмитриевны Золотаренко
«РОЛЬ ТРАНКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА FRA1 В ПАТОГЕНЕЗЕ ПСОРИАЗА»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.07 – генетика.

Актуальность исследования. Диссертационное исследование Золотаренко Алены Дмитриевны посвящено изучению регуляции транскрипции генов при псориазе и поиску ключевых регуляторов дифференциально экспрессированных генов. Псориаз – это широко распространенное социально значимое заболевание, неизлечимое на сегодняшний день. Оно может значительно снижать уровень жизни больных и сочетаться с различными осложнениями. В настоящее время большое внимание уделено изучению вклада иммунных клеток в патогенез заболевания, однако, роль патологических изменений структурных клеток кожи в псориазе до конца не выяснена. Таким образом, идентификация сигнальных каскадов, активность которых изменена в кератиноцитах при псориазе, а также их транскрипционных регуляторов – актуальная задача, решение которой позволит не только получить фундаментальные данные о молекулярно-генетических основах заболевания, но и определить новые альтернативные пути для разработки методов терапии этого заболевания.

Научная и теоретическая значимость исследования состоит в том, что в работе впервые показана роль транскрипционного фактора FRA1 в регуляции экспрессии генов, связанных с aberrантной пролиферацией и дифференцировкой кератиноцитов, которая приводит к появлению характерных псориазных повреждений на коже больных. Кроме того, было идентифицировано 37 транскрипционных факторов, не ассоциированных с

псориазом ранее, изучение активности которых может выявить прежде не идентифицированные молекулярно-генетические механизмы патологического процесса. Полученные результаты расширяют понимание патогенеза иммуноопосредованных заболеваний и вносят вклад в изучение регуляции сигнальных каскадов эукариот.

Структура диссертационной работы

Диссертация Золотаренко А.Д. объемом 139 страниц, содержит 16 таблиц и 27 рисунков, построена в полном соответствии с рекомендованной структурой кандидатских диссертационных работ. Она состоит из введения, обзора литературы, описания использованных в работе материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка использованных сокращений, двух приложений и списка цитирований использованной литературы, включающего 158 ссылок.

Характеристика диссертации

Во Введении обоснована актуальность темы диссертации, ее новизна и практическая значимость, сформулированы цель и задачи исследования, приведены положения, выносимые на защиту, описан личный вклад автора в работу.

Глава 1 «Обзор литературы» состоит из четырех основных частей. Приведены данные о генетике, патогенезе и иммунопатогенезе псориаза; описаны основные методы, применяемые при оценке уровней экспрессии генов, и приведены результаты исследований по поиску дифференциально экспрессированных при псориазе генов, выполненные в различных лабораториях при помощи экспрессионных микрочипов и методов, основанных на секвенировании. Дана характеристика семейства транскрипционных факторов AP-1 и освещена его роль в регуляторных процессах в норме и при патологиях. Детально описан один из членов семейства генов – транскрипционный фактор FRA1, изучению которого посвящена диссертационная работа. Литературный обзор настоящей работы изложен последовательно, затронутые вопросы имеют непосредственное отношение к проблематике диссертационного исследования автора и достаточно полно описывают состояние дел в данной области. Обзор литературы однозначно показывает, что выбранная автором область исследования развивается быстрыми темпами, и исследования, которым посвящена диссертационная работа, могут дополнить и расширить существующее понимание проблемы.

Глава 2 «Материалы и методы» содержит перечисления и описания проанализированных образцов, а также методов, которые применялись автором при выполнении диссертационного исследования. Работа характеризуется достаточным объемом выборки проанализированных образцов (37 пар биопсий больных псориазом, взятых из пораженной и непораженных областей кожи одних и тех же пациентов). Применялся широкий спектр методов современной молекулярной биологии. Описаны статистические

методы обработки результатов, а также биоинформатические подходы, использованные автором для анализа обогащения генных сетей дифференциально экспрессированными генами. Материал изложен достаточно четко и дает подробное представление об использованных подходах. Использованные автором методы современны и адекватны поставленным задачам.

В Главе 3 описываются результаты проведенного диссертантом исследования. Приведены данные полногеномного секвенирования транскриптома кожи при псориазе, описаны и проанализированы карты генных взаимодействий, обогащенные дифференциально экспрессированными при псориазе генами, выявлены их основные транскрипционные регуляторы. Показана роль транскрипционного фактора AP-1 в регуляции сигнальных каскадов, активированных в клетках кожи при псориазе, и приведены результаты оценки экспрессии генов данного транскрипционного фактора на 13 парах биопсий кожи больных псориазом при помощи количественной ПЦР в реальном времени. Выдвинута гипотеза о регуляторном потенциале транскрипционного фактора FRA1 в патогенезе псориаза, которая проверена опытами по сверхэкспрессии и ингибированию при помощи siRNA.

В Главе «Заключение» изложены полученные автором результаты и подчеркнута их значимость в контексте современного состояния проблемы.

Отметим высокое качество цветных иллюстраций, ярко и наглядно представляющим исследованные метаболические пути и генные сети, особенно рисунок 3, сделанный лично автором по модели патогенеза псориаза.

Выводы, сделанные автором, хорошо аргументированы и соответствуют поставленным задачам.

Однако к диссертационной работе имеются следующие **замечания**:

Есть опечатки. В работе есть ряд избыточных англицизмов, не принятых в российской научной литературе. Например, TOP-15, Top-20 и т.п. соответствуют выделенным группам генов из ранжированных списков, но это не написано в тексте явно. «Секвенирование РНК» - это скорее жаргонизм, надо говорить о секвенировании транскриптома, или РНК-профилировании, поскольку физически секвенируются кДНК, даже если это понятно из контекста. Нестандартно записаны некоторые аббревиатуры, такие как SOLiD и SOLID.

Формулы не пронумерованы по тексту всей работы. Есть опечатки в верхних/нижних регистрах обозначений в формулах, в частности на стр.63, на странице 67 - обозначение числа прочтений ДНК.

Таблицы 6 и 7 (с.71-72) даны без пояснений в тексте – предполагается краткий комментарий о функциях найденных наиболее экспрессированных и наиболее ингибированных при псориазе генов, а не только их список.

Ссылки даны по фамилиям авторов и году издания, при этом даны избыточные инициалы после фамилии авторов. Некоторые ссылки даны с излишними номерами - видимо опечатки (Anders 2013 #180). Недостаточно процитировано ключевое программное обеспечение, использованное в проекте - Metacore – то только со ссылкой на веб-сайт, то только ссылкой на компанию-производитель. Многие ферменты и реактивы также обозначены общим списком компаний без спецификаций и ссылок (см. стр. 45). Сокращения, использованные в работе, даны очень подробно (с.117 и далее) – с расшифровкой аббревиатур, но избыточно, и то на английском языке, то на русском. Есть полные дубли описания сокращений, например – NO (оксид азота), IL-17 (интерлейкин 17 F), IL-22. Пропущены такие обозначения как FC (Fold Change), требующие пояснения, в диссертационной работе, несмотря на то, что они приняты в иностранной литературе.

В целом, результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями генетики. Роль автора в получении и интерпретации экспериментальных данных показана достаточно детально. Однако соискатель, если не принимать во внимание тезисы конференций, не была первым автором в списке соавторов в представленных публикациях, что говорит, о том что она не была инициатором проведенных работ. Следует отметить, что современная генетика предполагает коллективную работу специалистов широкого профиля как в анализе экспериментальных данных, так и в подготовке выборок и молекулярных экспериментах. В любом случае это положение не ставит под сомнение собственные результаты соискателя, представленные в работе.

В качестве еще одного замечания следует отметить определенную тематическую несвязность интерпретации метаболических сетей псориаза с помощью генных сетей и использования данных микрочипов платформы Affymetrix, не покрывающих полный набор генов в геноме человека. Показано развитие исследований и определение все новых списков генов на более новых платформах микрочипов – от Affymetrix 95A к Affymetrix U133A и GeneChIP plus2.0 Использование РНК-профилирования позволяет определять новые гены, не представленные ранее на микрочипах, и хотелось бы видеть отдельное описание классов выявленных дифференциально экспрессирующихся генов, которые не могли быть получены ранее с помощью микрочипов. Отметим что дискуссия по сравнению платформ SOLiD и Illumina при определении списков дифференциально экспрессирующихся генов приведена, что придает последнему замечанию характер рекомендации.

Заключение.

Содержание работы полностью отражено в 19 печатных работах, в числе которых 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных научных результатов диссертации, 8 тезисов научных докладов на международных конференциях.

Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. Автореферат верно отражает основное содержание диссертации.

Таким образом, диссертационная работа Золотаренко Алены Дмитриевны «Роль транскрипционного фактора FRA1 в патогенезе псориаза» является законченной, оригинальной работой, научное и практическое значение которой в области генетики и медицины не вызывает сомнений.

По своему содержанию, уровню выполнения научных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа полностью соответствует всем требованиям ВАК России, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика (биологические науки), а ее автор, Золотаренко Алена Дмитриевна, заслуживает присуждения искомой степени.

Отзыв обсужден и одобрен на межлабораторном семинаре по молекулярной генетике, клеточной биологии и биоинформатике ИЦиГ СО РАН (Протокол № 3 от 20 апреля 2015 г.).

С.н.с. лаборатории эволюционной биоинформатики
и теоретической генетики,
Зав. лаб. нейроинформатики поведения ИЦиГ СО РАН
кандидат биологических наук

Юрий Львович Орлов

27 апреля 2015 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН)
630090, Новосибирск, Россия, пр.-т. ак. Лаврентьева, 10,
тел. (383)363-49-80, факс (383)333-12-78, icg-adm@bionet.nsc.ru

Подпись _____
Удостоверяю
и.о. ученого секретаря
к.б.н. Галина Николаевна Киселева

