

ОТЗЫВ

ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Золотаренко А.Д. «Роль транскрипционного фактора FRA1 в патогенезе псориаза», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности:

03.02.07 - Генетика.

Кандидатская диссертация А.Д.Золотаренко посвящена изучению молекулярного патогенеза псориаза и поиска причин его возникновения с помощью сравнительного полногеномного профилирования транскриптома. Использование данного подхода для анализа изменений экспрессионных профилей генов позволило идентифицировать 1564 дифференциально экспрессированных гена, из которых 938 генов характеризовались повышенной экспрессией в пораженной псориазом коже, а 626 – пониженной экспрессией. Последующий биоинформатический анализ и позволил выявить, проанализировать и описать измененные при псориазе сигнальные каскады, которые играют ключевую роль в патогенезе заболевания.

К элементам научной новизны в настоящей работе относятся результаты по выявлению дифференциально экспрессированных генов с помощью полногеномного профилирование экспрессии, а также последующих функциональный анализ, в результате которого впервые экспериментально показана регуляторная роль транскрипционного фактора FRA1 в патогенезе псориаза. Гипотеза, объясняющая роль транскрипционного фактора FRA1 в патогенезе псориаза, была подтверждена экспериментами по идентификации мишеней транскрипционной регуляции FRA1, связанных с патогенезом псориаза.

Одним из очевидных аспектов практической значимости выполненной данной работы заключается в выявлении дифференциально экспрессированных генов при псориазе. Среди них автор выделил «TOP20» генов с наиболее активированной и наиболее ингибированной экспрессией, так называемого «эффекторного паттерна псориаза», поскольку изменения экспрессии данных генов, по всей видимости, не инициируют заболевание, а связаны именно с его развитием и прогрессией. Белковые продукты генов данной группы могут рассматриваться как маркерные при разработке патогенетической терапии псориаза.

С учетом сказанного выше, диссертационная работа Алены Дмитриевны Золотаренко представляется современной и, несомненно, актуальной.

Композиция диссертации традиционна. Ее текст изложен на 139 страницах машинописного текста, включающих в себя: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, главу с изложением и обсуждением собственных результатов, заключение, выводы и приложение. Список литературы включает 158 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 16 таблицами и 27 рисунками.

Во введении вполне убедительно обосновывается актуальность исследования, четко сформулированы цель и задачи, которые охватывают различные аспекты работы.

Глава обзор литературы посвящена молекулярно-генетическому анализу патогенеза заболевания, а также методам сравнительного анализа экспрессии генов. Обзор написан очень широко, полно. При написании его автор использовал современные источники литературы, большей частью опубликованные в последние пять лет. Собранный и проанализированный материал явился фундаментом, как при обсуждении полученных результатов, так и при построении гипотез о роли отдельных генов в патогенезе заболевания. Несмотря на большой объем, и сложность материала Золотаренко успешно переработала его, оформив в виде хорошо читаемого и понятного текста.

Далее автор приводит характеристику материалов и методов исследования, используемых в работе. Данная глава является довольно приличной по размеру (23 страницы) и содержит в себе информацию о семнадцати различных методиках охватывающих широкий диапазон молекулярно-генетических подходов. Надо отдать должное, что это не часто встречается, что автор прекрасно владеет ими разбираясь как в теоретических основах, так и в экспериментальных тонкостях. Не смотря на это, некоторые разделы написаны не достаточно полно, не все методики могут быть воспроизведены исходя из написанного текста. Также хотелось бы отметить одно важное замечание. В своих немалочисленных экспериментах по экспрессионному анализу с помощью количественной ПЦР Золотаренко нормировала уровни экспрессии генов-мишеней относительно содержания мРНК гена “домашнего хозяйства” *GAPDH*. При этом на сегодняшний день широко известно, что данный ген является далеко не лучшим для использования его в этих целях. А во-вторых, общепринятым стандартом при публикации в зарубежных журналах является одновременное использование нескольких генов, как минимум трех.

Раздел «Результаты и обсуждение» хорошо написан, полученные результаты структурированы в таблицы и снабжены необходимыми иллюстрациями. Отдельно стоит сказать несколько слов о проведенном анализе полученных данных после получения полногеномных профилей экспрессии при псориазе. Для этого автор использовал широко известные приложения для анализа обогащения данных, после чего он мастерски провел поиск основных регуляторов транскрипции, а также сделал анализ карт генных взаимодействий с использованием литературных данных. Несомненно, это одна из сильных и интересных частей диссертационной работы, выполнения которой на таком детальном уровне не много где встретишь.

Также при чтении раздела «Результаты и обсуждение» возникли вопросы, ответы на которые не были найдены в тексте диссертации:

1. Автором были сформированы список генов с наиболее активированной и ингибированной экспрессией. В ТОП20 вошли гены идентифицированные в ходе данного исследования или же ДЭГ являющиеся общими для этого исследования и выявленными в работе Li (Li et al,2014)? Второе было бы логичнее.
2. Один из ключевых генов FRA1 был обнаружен в этом исследовании в результате биоинформатического анализа. Хотя как было показано позже, он также изменил свой уровень экспрессии в образцах с псориазом. Был ли он найден при секвенировании транскриптома и если нет то почему?
3. После идентификации гена FRA1 автором был проанализирован его уровень экспрессии в образцах с псориазом с помощью qPCR. Однако, этому анализу предшествовал RNAseq. Сопласуются ли данные полученные разными методами?
4. Проведённый анализ по идентификации ДЭГ касался белок-кодирующий мРНК, но при RNAseq выявляется весь транскриптом. Было бы очень хорошо отдельным результатом сказать также и об lncRNA, привести хотя бы данные по дифференциально экспрессированным lncRNA

В целом данная работа представляется интересной, современной и высоко актуальной. Написана она хорошо и легко читается. Автореферат диссертации и публикации по ней полностью отражают научную новизну и содержание работы.

