

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Михайловой Алины Геннадьевны на тему «Мутационные спектры мтДНК животных», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки)

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование молекулярно-генетических основ долголетия уже сегодня стало приоритетным направлением в развитии биомедицинской науки как в России, так и во всем мире. Нужно отметить, что немало значимых открытий в области геронтологии происходят не только при исследовании человека как объекта, а также при проведении сравнительного геномного анализа короткоживущих и долгоживущих видов животных. Многие ученые подчеркивают важность эволюционного подхода при изучении процесса старения человека.

В настоящее время существует множество предположений, касающихся развития старения организма как биологического процесса, одно из них связано с накоплением поломок (мутаций) в ДНК. Стоит отметить, что наибольшее их число происходит в митохондриальной ДНК (мтДНК), которая «мутирует» в десятки раз быстрее ядерного генома, а также способна к быстрому внутриклеточному отбору в сторону эгоистичных форм мтДНК. Эти качества мтДНК делают ее очень интересным и важным объектом изучения старения. Ранние исследования на опухолевых тканях показали, что мутационный спектр (вероятности перехода одного нуклеотида в любой другой) митохондрий уникален и обусловлен действием специфичного для митохондрий мутагена, который воздействует схожим образом на разные клетки.

Необходимо отметить, что сегодня работы по изучению митохондриальной компоненты в процессе старения различных тканей у позвоночных животных имеют фрагментарный характер. Поэтому комплексное генетическое диссертационное исследование Михайловой Алины Геннадьевны,

посвященное изучению особенностей мутационных спектров мтДНК различных видов животных и человека с последующим выделением факторов мутагенеза и установлением мутационных сигнатур митохондриального генома позвоночных имеет важное значение и научную ценность для понимания роли мтДНК в старении различных тканей и органов живых существ.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

В работе Михайловой А.Г. впервые выявлены особенности мутационных процессов в митохондриальной ДНК, установленные посредством анализа мутационных спектров позвоночных животных с помощью уникального алгоритма реконструкции. В частности, показано, что мутационные спектры позвоночных ассоциированы с такими параметрами жизненного цикла позвоночных животных, как температура тела и продолжительность жизни. Выявлено, что вероятность транзиций $A_T > G_T$ увеличивается у долгоживущих животных и у животных с высокой температурой тела и уменьшается в опухолевых образцах на более поздней стадии канцерогенеза и в тканях, с высокой скоростью пролиферации клеток. Впервые показано, что мутация $A_T > G_T$ может быть чувствительна к уровню молекулярного кислорода и являться уникальным маркером окислительного метаболизма клеток, тканей и организмов.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Результаты диссертационной работы имеют определенную фундаментальную ценность в области генетики человека и биологии старения. Теоретический вклад работы связан с формированием новой научной гипотезы: мутационный спектр митохондриальной ДНК, особенно частота мутаций из аденина в гуанин на тяжелой цепи мтДНК, может быть чувствителен к уровню аэробного метаболизма на уровне клеток и тканей. Разработанные и примененные методы обработки данных имеют перспективу использования для оценки биологического возраста путем анализа интенсивности аэробного метаболизма в различных клетках, тканях, организмах и видов. В частности, интересно предположение авторов об оценке *de novo* мутации мтДНК для

предсказания биологического возраста человеческих ооцитов при проведении экстракорпорального оплодотворения. Результаты диссертационной работы могут быть использованы при чтении лекционных курсов по генетике человека и биологии старения в профильных ВУЗах.

СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диссертационная работа выполнена в соответствии с поставленными задачами и проведена на хорошем уровне с использованием современных биоинформатических методов, среди которых, использование авторского программного комплекса, который выполняет множественные выравнивания на основе используемых кодонов (с использованием стандартного митохондриального генетического кода) и позволяет проверить наличие внутренних стоп-кодонов в анализируемых последовательностях ДНК; анализ различных баз данных, включая «Dryad» AnAge, GenBank; и анализ времени, проведенного ДНК в одноцепочечном состоянии. Весь статистический анализ проведен на языке R. Для анализа филогенетической инерции использовали филогенетический обобщенный метод наименьших квадратов, пакет «Caper». Нормализация наблюдаемых нуклеотидных замен проводили по частоте предковых нуклеотидов.

ПУБЛИКАЦИИ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы диссертации прошли успешную апробацию на Российских и Международных конференциях. Основные научные результаты, приведенные в диссертации и положения отражены в 16 научных работах, из которых 3 статьи, опубликованы в журналах, входящих в перечень ВАК (2 – в базах данных международных индексов научного цитирования WoS и Scopus, 1 – РИНЦ), 3 статьи опубликованы в качестве препринтов и 10 тезисов научных конференций. Содержание публикаций соответствует содержанию диссертационной работы.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, СТРУКТУРА И ОФОРМЛЕНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Диссертационная работа изложена на 128 страницах и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы»,

«Результаты исследования», «Обсуждение», «Выводы», «Благодарности» «Список литературы». Работа содержит 40 рисунков и 29 таблиц. Список литературы включает 123 литературных источников, из которых 1 — отечественный и 122 — зарубежные. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 21-75-20143 - (2021-2024 гг) и Российской Федеральной программой академического лидерства "Приоритет 2030" в Балтийском федеральном университете им. Иммануила Канта.

«Введение» включает все необходимые разделы: актуальность, цель и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, научную новизну и теоретическую значимость исследования. Последняя прописана общими словами, без конкретики.

В главе «Обзор литературы» представлен проведенный анализ современной отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы. Он содержит информацию для дальнейшего обсуждения результатов и позволяет сформировать представления о современном уровне решаемой задачи. Несмотря на это, оппоненту не хватает сведений о митохондриальной патологии, о методах детекции и обнаружения мутаций в мтДНК, о биоинформатических алгоритмах анализа мтДНК в контексте цели и задач настоящего исследования.

В главе «Материалы и методы» представлено описание объектов, предметов и методов исследования. Все использованные методы информативны и адекватны поставленным целям и задачам, соответствуют современному уровню исследований.

В главе «Результаты исследования» представлены результаты диссертационного исследования. Каждая поставленная задача реализована и отражена в соответствующей подглаве. В первой подглаве оценивается связь между мутационными спектрами млекопитающих и продолжительностью жизни. Во второй – с температурой тела. В третьей – описан анализ спектра мтДНК в опухолевых тканях человека во время канцерогенеза.

В главе «Обсуждение» представлена оценка мутагенеза мтДНК. Приведена аргументация в пользу того, что полученные результаты в первую

очередь демонстрируют именно процесс мутагенеза мтДНК, а не естественного отбора.

Завершают работу «Выводы», которые соответствуют поставленной цели и задачам работы и основываются на полученных результатах.

Подводя итог анализу диссертационной работы, следует сказать, что автором получены принципиально новые и интересные для разных направлений науки данные.

Общие вопросы и замечания по работе

В целом по структуре и содержанию диссертационной работы принципиальных замечаний нет. Диссертация и автореферат написаны достаточно сложным для восприятия языком, присутствует нетрадиционное изложение материала. Имеются некоторые вопросы и небольшие замечания:

Замечания:

1. В работе есть опечатки.
2. Присутствует перегруженность таблиц математическими терминами (следовало бы многие из них раскрыть в материалах и методах). Некоторые из них сложны для восприятия. Наиболее наглядными являются только рисунок 3.20 и 3.21!

Вопросы:

1. Зависит ли увеличение замен $A_T > G_T$ от их локализации по отношению к гену, участку гена (вне эффекта нахождения гена в одноцепочечном состоянии во время репликации мтДНК)?
2. Существуют ли пол зависимые эффекты для полученных данных?
3. Для каких форм рака можно на основании анализа скорости замен в опухолевой ткани предсказывать ее переход из доброкачественной в злокачественную?

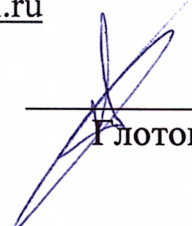
Указанные в отзыве вопросы и замечания не снижают научной значимости диссертационного исследования. Необходимо также подчеркнуть, что рассматриваемая диссертационная работа является самостоятельным, интересным и завершенным научным исследованием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Михайловой А.Г. «Мутационные спектры мтДНК животных» является самостоятельным и завершенным исследованием. По своей актуальности и уровню исследований, теоретического анализа полученных данных, научной новизне диссертационная работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 №335; от 02.08.2016 №748; от 29.05.2017 №650; от 28.08.2017 №1024; от 01.10.2018 №1168; от 01.10.2018 №1168; от 20.03.2021 №26; 11.09.2021 №1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор — Михайлова Алина Геннадьевна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

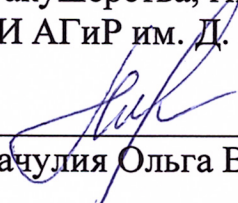
Официальный оппонент:

доктор биологических наук (специальность 03.02.07 — генетика),
заведующий Отделом геномной медицины им. В. С. Баранова Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта» (ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта»)
Адрес: Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3
Тел.: +7-812-3289809, e-mail: anglotov@mail.ru


Глотов Андрей Сергеевич

Подпись А.С. Глотова заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта» (ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта») кандидат медицинских наук


Пачулия Ольга Владимировна

«30» сентября 2024 года