

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Жур Кристины Валерьевны

«АНАЛИЗ ДРЕВНЕЙ ДНК ЕДИНИЧНЫХ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ КАК ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ОСНОВА ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ ИСТОРИЧЕСКИХ ГИПОТЕЗ»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.7. Генетика

Актуальность темы исследования, выбранной диссертантом, не вызывает сомнений. Стремительное совершенствование технологий полногеномного секвенирования делает палеогенетику важнейшим инструментом междисциплинарных исследований, позволяющим проверять археологические и исторические гипотезы. Развитие этого направления имеет стратегическое значение, так как способствует укреплению позиций национальной науки в международном научном пространстве и противодействует распространению псевдонаучных интерпретаций истории.

Российская Федерация располагает уникальными археологическими материалами, к числу которых относятся, в частности, останки Денисовского человека. Тем не менее, до недавнего времени многие подобные образцы не подвергались геномному анализу или изучались за рубежом без достаточного участия российских специалистов, что не способствовало развитию исследований древней ДНК в России. На сегодняшний момент, в стране работает ограниченное число лабораторий, способных проводить полноценные исследования древней ДНК с применением современного арсенала методов анализа аутосомных данных. Соответственно, актуальной задачей является разработка и внедрение стандартизированных методических подходов для работы с древней ДНК, применение которых позволит полноценно исследовать уникальные российские археологические материалы, обеспечит высокую воспроизводимость результатов и сопоставимость с мировыми исследованиями, а также укрепит позиции отечественной науки в международном палеогенетическом сообществе.

Работа Жур К.В. направлена на проведение палеогенетического анализа уникальных костных останков древних людей, относящихся к важным культурно-историческим эпохам: представителя правящего рода Рюриковичей, князя Дмитрия Александровича, сына великого князя Александра Ярославича Невского, и человека эпохи энеолита, ассоциированного с культурой Дарквети-Мешоко, одной из самых ранних известных земледельческих общин на Северном Кавказе. Исследование, направленное на реконструкцию генетического профиля княжеского рода Рюриковичей, актуально, так как до настоящего времени вопрос его происхождения не был достоверно решён. Не меньший интерес представляет исследование образца эпохи энеолита, связанного с археологической культурой Дарквети-Мешоко, которая рассматривается как важное звено в

изучении неолитизации Евразии и имеет значение в контексте дискуссий о происхождении и раннем распространении носителей индоевропейских языков.

Структура и содержание диссертации

Диссертация Жур К. В. изложена на 220 страницах машинописного текста и включает 25 таблиц в тексте и 9 в Приложениях, и 43 рисунка. Работа разделена на четыре части, каждая из которых посвящена своему объекту исследования. Первая часть описывает разработку системы лабораторной пробоподготовки древней ДНК для высокопроизводительного секвенирования. Вторая часть — исследование влияния постмортального дезаминирования древней ДНК на реконструкцию генотипов древних людей и надежность результатов популяционно-генетического анализа. Третья часть посвящена реконструкции генома древнего представителя княжеского рода Рюриковичей, с применением разработанной системы лабораторной пробоподготовки древней ДНК для высокопроизводительного секвенирования и аналитического маршрута анализа и интерпретации полученных данных. В четвертой части представлены результаты реконструкции генетического облика представителя культуры Дарквети-Мешоко из Нальчикского коллективного энеолитического могильника на Северном Кавказе. Каждая часть содержит краткий обзор литературы, описание материалов и методов, результаты и их обсуждение. Общая структурная часть работы включает введение, заключение, выводы и список литературных источников, содержащий 102 ссылки.

Во **введении** автор обосновывает актуальность проведенного исследования, определяет цели и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы.

В **Главе 1** представлена разработанная система лабораторной подготовки древних образцов для высокопроизводительного секвенирования, обеспечивающая комплексный подход к работе с древними образцами. Система включает в себя собственную методику приготовления библиотек древней ДНК. Методика основана на конвертации одноцепочечных ДНК-фрагментов и применении устойчивой к урацилам ДНК-полимеразы, что позволяет сохранить больше уникальных молекул и характерные для древней ДНК признаки аутентичности. Методика совместима с известными системами обогащения по интересующим областям генома и позволяет существенно снизить стоимость секвенирования древней ДНК, учитывая высокий уровень контаминации таких образцов. Подробно описаны ключевые принципы, которые следует учитывать при выборе протокола приготовления библиотек древней ДНК для высокопроизводительного секвенирования. Это позволяет исследователям по аналогии адаптировать свои собственные протоколы или протоколы коммерческих наборов реагентов для приготовления библиотек, основанных на конвертации одноцепочечных фрагментов ДНК, и не зависеть от использования конкретного коммерческого набора.

В Главе 2 представлены результаты проверки предположения о влиянии постмортального дезаминирования дДНК на достоверность реконструкции генотипов древних индивидов и надежность популяционно-генетических выводов. Предложены подходы к минимизации влияния постмортального дезаминирования ДНК, что позволяет повысить надежность результатов палеогенетических исследований. Разработан аналитический маршрут обработки и интерпретации данных секвенирования древней ДНК.

Третья и четвертая главы посвящены палеогенетической характеристике двух уникальных образцов, принадлежащих к различным археологическим эпохам, с применением разработанной системы лабораторной пробоподготовки древней ДНК для высокопроизводительного секвенирования и аналитического маршрута обработки и интерпретации полученных данных. В Главе 3 выполнен палеогенетический анализ костных останков, ассоциируемых с представителем династии Рюриковичей, правившей на территории средневековой Руси. В Главе 4 проанализирован образец эпохи энеолита, ассоциированного с археологической культурой Дарквети-Мешоко на Северном Кавказе.

В каждой главе подробно представлены материалы и методы, применяемые для молекулярно-генетических и биоинформатических экспериментов.

Степень достоверности результатов и обоснованности выводов, сделанных автором, научная новизна и практическая значимость исследования

В диссертационной работе Жур К. В. впервые в мире реконструирован генетический профиль древнего представителя княжеского рода Рюриковичей, великого князя Владимирского, Дмитрия Александровича, сына великого князя Александра Ярославича Невского. В геноме князя выявлен раннесредневековый европейский генетический компонент, связанный с кочевыми народами евразийских степей, и древний восточно-евразийский компонент. Установлено, что род Рюриковичей характеризуется носительством N1a-гаплогруппы Y-хромосомы со времен великого князя Ярослава Мудрого. Полученные научные данные о происхождении князя Дмитрия Александровича могут быть использованы для дальнейшего изучения генетической истории средневековой Руси и ее знати.

Жур Кристиной Валерьевной выполнен палеогенетический анализ костных останков представителя Дарквети-Мешоковской культуры эпохи энеолита (ок. 5000–3500/3300 гг. до н. э.) из Нальчикского коллективного могильника на Северном Кавказе. Реконструкция генетического профиля древнего человека из Нальчикского могильника и установление его генетической близости к представителям энеолитической Хвалынской культуры среднего Поволжья позволило впервые выдвинуть гипотезу о миграции неолитических технологий через Кавказ в восточно-европейские степи. Результаты исследования могут быть использованы для дальнейшего

изучения историко-демографических процессов Кавказского региона, а также маршрутов и хронологии миграций, ассоциируемых с экспансией индоевропейских языков.

Жур К.В. впервые продемонстрировала влияние постмортального дезаминирования дДНК на достоверность реконструкции генотипов древних индивидов и надежность результатов популяционно-генетического анализа. В работе предложены способы повышения надежности результатов палеогенетических исследований. Автором разработана система лабораторной пробоподготовки ДНК для высокопроизводительного секвенирования, предложен аналитический маршрут анализа и интерпретации данных секвенирования древней ДНК, в котором представлена оптимальная последовательность применения комплементарных статистических инструментов позволяющих получить комплексную характеристику образцов ДНК древнего человека.

Научные результаты, полученные с использованием разработанных системы лабораторной пробоподготовки дДНК для высокопроизводительного секвенирования и аналитического маршрута обработки и интерпретации полученных данных согласуются с археологическими и историческими источниками и подтверждают гипотезы, основанные на археологических материалах, что свидетельствует об высокой эффективности предложенных методик.

Все работы с древней ДНК проводили в «чистой комнате» – специально оборудованном для этих целей помещении. Используемые в работе методики для работы с древней ДНК, а также инструменты анализа данных, широко применяются в данной области исследований и соответствуют общепризнанным международным стандартам, что обеспечивает достоверность и воспроизводимость полученных результатов. Все полученные результаты диссертации полностью отражены в 6 научных публикациях, в том числе в 3 статьях в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК, а также в 5 тезисах и 1 монографии. Выдвинутые автором положения, выводы и заключение отличаются корректностью и научной обоснованностью.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

К мелким редакционным замечаниям относятся небольшие опечатки в тексте, например, в разделе “Цель и задачи исследования.” написано “разработанных системы”; на странице 25 написано “Готовую смесь (без протеиназы K) можно хранить при комнатной температуре (20–25 °C) не менее 1 года, скорее всего, имелось в виду не более 1 года; для улучшения восприятия рисунка 15 лучше вместо красного и оранжевого цвета использовать более контрастные цвета; также я считаю, что более корректно использовать термин прочтение вместо чтения.

Есть несколько вопросов касательно раздела 1.2 Материалы и методы: почему в элюирующий буфер был добавлен ЭДТА? ведь он может

ингибировать последующие ПЦР. В диссертационной работе не было подробно описано использование отрицательных контролей на разных этапах экспериментов, на каком этапе осуществлялась проверка отсутствия целевой ДНК в контролях?

Также есть небольшой вопрос об информации, содержащейся в Таблице 5 “Результаты тестового секвенирования библиотек дДНК” раздела 1.3 Разработка системы лабораторной пробоподготовки древней ДНК для высокопроизводительного секвенирования: включает ли количество откартированных на референсный геном человека hg19 чтений ПЦР-дубликаты или в этом столбце представлены только уникальные прочтения?

С чем может быть связан написанный на Стр. 82 результат: Анализ главных компонент показал, что как при использовании всех ОНП (Рисунок 16А), так и при включении в анализ только трансверсий (Рисунок 16Б), не наблюдается полного совпадения ни для одной пары библиотек по координатам в плоскости PC1-PC2.

Оба исследуемых образца имеют несомненную ценность для истории рассматриваемого региона, однако они относятся к разным эпохам и территориям региона, и поэтому возникает вопрос, почему были выбраны именно эти образцы, были ли они выбраны из-за какой-то исторической связи между ними или как идентификаторы важных, но разных, событий в истории региона, благодаря которым, как мозаика, собирается общая картина?

В порядке дискуссии хотелось бы задать диссертанту некоторые вопросы:

Является ли выявленное генетическое сходство князя Дмитрия Александровича с представителями раннесредневекового населения Скандинавии, «викингами», доказательством «варяжского» происхождения Рюрика, или необходимо проведение дальнейших исследований, если да, то каких?

Результаты исследования уникального генома древнего представителя Дарквети-Мешоковской культуры эпохи энеолита позволили впервые выдвинуть гипотезу о миграции неолитических технологий через Кавказ в восточно-европейские степи; в диссертационном исследовании написано, что полученные геномные данные представителя Дарквети-Мешоковской культуры могут быть использованы историками, археологами и палеогенетиками для дальнейшей реконструкции историко-демографических процессов Кавказского региона. Какие существующие исторические гипотезы можно проверить с использованием полученных данных при генерировании новых геномных данных представителей других культур региона?

Заключение

В заключении следует отметить, что представленная диссертационная работа «Анализ древней ДНК единичных археологических образцов как фундаментальная основа для построения исторических гипотез» является заметным вкладом в исследование происхождения княжеского рода

Рюриковичей и реконструкцию демографической истории на Северном Кавказе, а также в формирование отечественной научной школы палеогенетики. Исследование выполнено на высоком научно-методическом уровне, результаты, полученные автором, являются достоверными, представляют практический интерес и могут служить основой для дальнейших исследований. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Содержание диссертационной работы Жур Кристины Валерьевны полностью соответствует п.п. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с действующими изменениями), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание степени кандидата биологических наук, а ее автор Жур Кристина Валерьевна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика биологической отрасли наук.

23.10.2025 г.

Официальный оппонент

Куслий Мария Александровна,

кандидат биологических наук,

старший научный сотрудник лаборатории разнообразия и эволюции геномов

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт молекулярной и клеточной биологии

Сибирского отделения Российской академии наук,

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 8/2

Тел.: +7 (383) 363-90-42

email: kusliy.maria@mcb.nsc.ru

Подпись Куслий М.А. заверяю:

