

ОТЗЫВ официального оппонента на диссертацию Манахова Андрея Дмитриевича «ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА КУНЬИХ (MUSTELIDAE)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Диссертационное исследование А.Д. Манахова направлено на изучение геномов представителей семейства куньих. В последнее десятилетие, в связи с совершенствованием технологий секвенирования, появляется все больше работ по сборке и аннотации геномов. Сборка генома открывает новые возможности для изучения структуры популяции, анализа функциональной роли геномных полиморфизмов и поиска ассоциаций между генотипом и фенотипом организма. Диссертационная работа А.Д. Манахова выполнена в русле этого бурно развивающегося направления, при этом в качестве объектов исследования выбраны важные для промышленности виды животных: соболь, лесная куница, американская норка. Применение современных геномных технологий к промышленно-важным объектам обуславливает актуальность тематики диссертации. Несмотря на то, что для ряда видов куньих уже получены геномные сборки, их качество в большинстве случаев оставляет желать лучшего. Кроме того, актуальность работы обоснована возможностью получить ответы на ряд фундаментальных биологических вопросов, в частности о возможности гибридизации между близкими видами в местах пересечения их ареалов обитания и о природе механизмов, лежащих в основе эмбриональной диапаузы. Ещё одной актуальной задачей, поставленной в рамках диссертационной работы, является поиск молекулярных маркеров и механизмов, связанных с внутривидовыми различиями в окраске американской норки. Эта задача также имеет важное прикладное значение в рамках пушного животноводства, так как в перспективе может позволить создать новые тест-системы для поддержания пород животных с необычной окраской и проводить молекулярную селекцию для создания новых пород.

Диссертация состоит из введения, трех глав, описывающих основное содержание работы (главы 1-3), выводов, списка литературы и приложения. Каждая из глав 1-3 описывает тематически связанный блок исследований, и содержит подглавы, содержащие обзор литературы, материалы и методы, а также результаты и обсуждения. Такой стиль изложения диссертации Манахова А.Д. кажется удачным, хотя и отличается от распространенной формы, в которой материалы и методы, результаты и обсуждения являются самостоятельными главами, объединяющими информацию по всем блокам работ. В действительности выделение обзора литературы и методов, относящихся к одному блоку

результатов, помогают быстро вникнуть в актуальность каждой из поставленных задач и понять значение полученных результатов в контексте данных, полученных научным сообществом ранее.

Во введении автор ясно очерчивает область диссертационной работы, показывает ее актуальность, научную и практическую значимость, а также формулирует цели и задачи исследования.

Первая глава посвящена сборке геномов соболя и лесной куницы. В обзоре литературы приведены данные о биологии объектов исследования, ареале их распространения, а также сведения об уже имеющихся геномных сборках для близких видов организмов. Материалы и методы дают исчерпывающую информацию о выбранных для анализа животных, а также способах выделения ДНК, приготовления геномных библиотек и секвенирования. В результатах достаточно подробно приведены характеристики полученных геномных сборок, а также обсуждены построенные на основе геномных сборок филогенетические деревья.

Вторая глава посвящена популяционному анализу исследуемых видов, а также их гибридов (кидусов). Обзор литературы содержит зоологические и молекулярно-биологические данные о гибридизации соболя и норки, а также другие аспекты биологии этих животных. Материалы и методы также позволяют составить детальное представление о протоколах обработки экспериментального материала. В результатах приведена кластеризация генотипов животных, полученная различными способами, показано промежуток положение кидусов относительно родительских видов (в большинстве случаев). Приводятся аргументы в пользу фертильности гибридов первого поколения. Приведены данные по геномному анализу двух археологических образцов лесной куницы.

Третья глава представляет, на мой взгляд, наиболее интересные биологические результаты. На основе данных секвенирования автор устанавливает генетические варианты, встречающиеся у животных с несколькими практически-значимыми вариантами окрасок у американской норки. Благодаря анализу *in silico*, в ряде случаев подтвержденному прямыми молекулярными тестами, автору удается выявить причинный (каузативный) вариант, ответственный за наследование окраски.

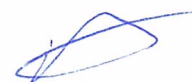
В целом, диссертация хорошо написана (хотя и содержат небольшое число стилистических недочетов и опечаток), выводы полностью подкреплены полученными результатами и работа оставляет впечатление качественно выполненной и законченной. Тем не менее, имеется ряд замечаний и вопросов, которые приведены ниже.

1. Во введении и обзоре литературы, автор несколько раз подчеркивает актуальность исследования представителей семейства куньих в связи с уникальным феноменом эмбриональной диапаузы. Казалось бы, сборка и аннотация генома создает хорошую базу для исследования этого феномена. Тем не менее, автор не проводит исследований в этом направлении.
2. Для сборки генома автор использует аутбредных животных, для которых ожидается гетерозиготность по многим локусам. В таких случаях, инструменты для сборки генома часто генерируют дублирующие друг друга скаффолды с высоким уровнем гомологии, по сути представляющие собой альтернативные варианты одного локуса. Проводилась ли автором попытка вычлнить и удалить такие дублирующие скаффолды?
3. Автор упоминает об опубликованной в работе Liu et al, 2020 сборке генома *Martes zibella*, однако не приводят детального сравнения полученной в рамках диссертационной работы сборки с опубликованной. Исходя из значений N50, полученные автором данные имеют худшее качество – с чем это может быть связано?
4. Для определения скаффолдов, относящихся к Y-хромосоме, автор использует F-индекс. Автор устанавливает эмпирический порог  $F < 1$ , однако не указывает, какое распределение F-индекса было получено и не приводят контролей, для которых на известных последовательностях Y-хромосомы было бы показано, что такой порог F-индекса позволяет достоверно отличить аутосомы и половые хромосомы. Та же проблема с порогом покрытия.
5. Альтернативный способ поиска скаффолдов Y-хромосомы заключался в сравнении покрытия в геномных данных животных мужского и женского генотипа. Верификация найденных скаффолдов методом ПЦР также проводилась на этих животных. Нет ли в таком анализе элементов кольцевой логики? Кроме того, не ясно, может ли быть достоверной верификация, проведенная на одном животном (цитата из текста: «...с использованием ДНК по крайней мере на 1 самца и 1 самки каждого вида»).
6. Анализ археологических образцов, хотя и является интересной частью работы, кажется не позволил автору сделать каких-либо значимых биологических выводов, и поэтому смотрится неоконченным.
7. На рис. 8 рекомендуется указать долю дисперсии, объясненной компонентами. Кроме того, в этом анализе рекомендуется удалять коррелирующие свободные переменные перед проведением непосредственно PCA, что, видимо, не было сделано.
8. В случае мутаций  $KIT^{sh}$  и  $SOPA^{Cr}$  *in silico* анализ не может однозначно свидетельствовать о нарушении функции белка и, поэтому, на мой взгляд нельзя исключить гипотезу о сцеплении с другим близкорасположенным вариантом, например, регуляторным, являющимся основной причиной изменения окраски.

Вместе с тем, отмеченные недостатки не снижают моей высокой оценки работы А.Д. Манахова, а замечания носят рекомендательный характер. Работа выполнена на высоком методическом уровне, содержит новые интересные научные данные, хорошо оформлена и легко читается. Полученные автором результаты, наряду с богатым справочным материалом, несомненно, будут полезны не только исследователям, занимающимся геномикой куных, но и могут быть использованы в практических целях, а также при подготовке учебных курсов по генетике. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Заключение. Диссертационная работа на тему «ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА КУНЫХ (MUSTELIDAE)» соответствует критериям пп. 9-11 и 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, и представляет собой законченную научно-квалификационную работу. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.7 – «генетика», а ее автор, А.Д. Манахов заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – «генетика»

Заведующий сектором геномных механизмов онтогенеза,  
ФИЦ ИЦиГ СО РАН, кандидат биологических наук  
В.С. Фишман



29.04.2022

Адрес места работы:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)

Адрес: 630090, Новосибирск, Россия, пр.ак.Лаврентьева,10  
Для телеграмм: Новосибирск 90, ЦИТОЛОГИЯ  
Телефон: +7(383) 363-49-80  
Факс: +7(383) 333-12-78  
E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

Подпись Фишмана В.С. заверяю  
директор ИЦиГ СО РАН, д.б.н.,  
член-корреспондент РАН  
Кочетов А.В.



29.04.2022