Отзыв

официального рецензента на диссертационную работу
Юриковой Оксаны Юрьевны
на тему «Взаимодействие miRNA с кодирующей областью мРНК генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями», представленную на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности «6D070100-Биотехнология»

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами

В настоящее время наиболее актуальными проблемами современной медицины являются диагностика и лечение таких социально значимых заболеваний, как сахарный диабет, онкологические заболевания, дегенеративные болезни нервной системы, острый инфаркт миокарда, ВИЧ, туберкулез и прочие. Остуствие или несовершенство методов ранней диагностики резко лимитирует возможности их эффективной терапии.

микроРНК представляют собой малые некодирующие РНК длиной около 17-25 нуклеотидов. Показано, что процессы патогенеза сопряжены с изменением уровней экспрессии микроРНК. Это позволяет рассматривать микроРНК в качестве перспективных биомаркеров при раннем скрининге, улучшая своевременную диагностику заболеваний различной этиологии. Предсказание сайтов связывания микроРНК расширяет представление о механизмах регуляции экспрессии генов-мишеней. Для поиска генов-мишеней микроРНК широко используются биоинформатические методы, которые позволяют ускорить и снизить стоимость поиска, предлагая наиболее эффективные комбинации микроРНК и их генов-мишеней.

Целью представленной диссертационной работы являлось изучение сайтов связывания микроРНК в белок кодирующей областью мРНК генов, связанных с такими социально значимыми заболеваниями как Болезнь Альцгеймера, немелкоклеточный рак легкого и инфаркт миокарда.

Работа Юриковой О.Ю. выполнена в рамках реализации проектов «Разработка метода ранней диагностики сердечно-сосудистых заболеваний на основе microRNA и их генов-мишеней» № 0115РК00286 и «Разработка тест-систем ранней диагностики сердечно-сосудистых, онкологических и нейродегенеративных заболеваний на основе ассоциаций микроРНК и их генов-мишеней» № 0118РК00034 Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Исходя из вышеперечисленного, тема исследования «Взаимодействие miRNA с кодирующей областью мРНК генов, связанных с некоторыми социально значимыми заболеваниями» является актуальной.

2. Научные результаты и их обоснованность

Результаты, представленные в диссертационной работе, отражают сформулированные цель и задачи. В ходе проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

- В формате для программы MirTarget создана база нуклеотидных последовательностей 6272 miRNA человека, содержащая 2565 последовательности из базы данных miRBase и 3707 последовательностей, открытых Londin и др, 2015. Создана база нуклеотидных последовательностей 75 генов, участвующих в болезни Альцгеймера, 237 генов, ассоциированных с инфарктом миокарда и 115 генов, вовлеченные в патогенез немелкоклеточного рака легкого;

- Определены характеристики взаимодействия 6272 miRNA и 115 генов, участвуюших в развитии немелкоклеточного рака легкого, из которых 64 в CDS mRNA имеют сайты связывания miRNA. Из них установлены ассоциации 40 miRNA и 15 генов-мишеней, свободная энергия взаимодействия которых составляет - 125 кДж/моль и выше;

- Установлены 23 гена, участвующие в развитии инфаркта миокарда и имеющие сайты связывания miRNA в CDS mRNA. Из них только одна miRNA и одна mRNA взаимодействует с высоким значением свободной энергии равной - 134 кДж/моль;

- Из изученных 75 генов, участвующих в развитии болезни Альцгеймера выявлены 35 генов, которые имеют сайты связывания miRNA в CDS mRNA. Из них ассоциации 11 miRNA и 8 mRNA имеют свободную энергию взаимодействия равную - 125 кДж/моль и выше;

- Выявлено изменение числа сайтов связывания miR-1322 в CDS mRNA ортологичных генов животных. miR-1322 может участвовать в регуляции экспрессии кандидатных генов некоторых нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний;

- Из изученных 17508 mRNA генов человека найдены 32 гена с полностью комплементарными сайтами связывания 41 miRNA из изученных 2565 miRNA в CDS, для которых выявлена филогенетическая консервативность.

Поставленная цель и сформулированные задачи полностью решены в рамках представленной работы.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого научного результата (научного положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации

Полученные научные результаты полностью соответствуют поставленным задачам и положениям выносимым на защиту. По итогам работы представлено 6 выводов.

Создана база нуклеотидных последовательностей 6272 miRNA человека, содержащая 2565 последовательности из базы данных miRBase и 3707 последовательностей, открытых Londin и др, 2015. Создана база нуклеотидных последовательностей 75 генов, участвующих в болезни Альцгеймера, 237 генов, ассоциированных с инфарктом миокарда и 115 генов, вовлеченные в патогенез немелкоклеточного рака легкого.

Определены характеристики взаимодействия 6272 miRNA и 115 генов, участвуюших в развитии немелкоклеточного рака легкого, из которых 64 в

CDS mRNA имеют сайты связывания miRNA. Из них установлены ассоциации 40 miRNA и 15 генов-мишеней, свободная энергия взаимодействия которых составляет - 125 кДж/моль и выше. По результатам опубликованы 4 тезиса в материалах Международных конференций и 1 статья в журнале изперечня Комитета по контролюв сфере образования и науки.

Установлены 23 гена, участвующие в развитии инфаркта миокарда и имеющие сайты связывания miRNA в CDS mRNA. Из них только одна miRNA и одна mRNA взаимодействует с высоким значением свободной энергии равной - 134 кДж/моль. Полученные результаты нашли отражение в 1 статье.

Из изученных 75 генов, участвующих в развитии болезни Альцгеймера выявлены 35 генов, которые имеют сайты связывания miRNA в CDS mRNA. Из них ассоциации 11 miRNA и 8 mRNA имеют свободную энергию взаимодействия равную - 125 кДж/моль и выше. Опубликованы 3 тезиса в материалах Международных конференций.

Выявлено изменение числа сайтов связывания miR-1322 в CDS mRNA ортологичных генов животных. miR-1322 может участвовать в регуляции экспрессии кандидатных генов некоторых нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Полученные результаты опубликованы в 2 статьях и 3 тезисах.

Из изученных 17508 mRNA генов человека найдены 32 гена с полностью комплементарными сайтами связывания 41 miRNA из изученных 2565 miRNA в CDS, для которых выявлена филогенетическая консервативность. Полученные данные нашли отражение в 1 статье в международном журнале с импакт-фактором и 1 тезисе в материалах Международной конференции.

Каждый вывод обоснован и подкреплен соответствующими результатами.

4. Степень новизны каждого научного результата (положения), вывода соискателя, сформулированных в диссертации

Полученные, в рамках выполнения диссертационной работы, результаты существенно расширяют знания об особенностях связывания микроРНК с белок кодирующей областью мРНК генов, связанных с развитием социально-значимых заболеваний, таких как инфаркт миокарда, болезнь Альцгеймера и немелкоклеточный рак легкого.

В диссертационной работе впервые предложены ассоциации микроРНК совместно с генами-мишенями, с целью разработки основ диагностики некоторых онкологических, нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваний. В ходе исследований найдены сайты связывания микроРНК в мРНК с высокой величиной свободной энергии взаимодействия, а также сайты связывания с кластерной организацией. Выявлены полностью комплементарные участки связывания микроРНК в кодирующей области мРНК. Полученные результаты опубликованы и доложены на международных конференциях и имеют научную новизну.

5. Практическая и теоретическая значимость научных результатов

Полученные соискателем Юриковой О. Ю. научные результаты, проведены с использованием современных биоинформатических подходов. Создана база данных нуклеотидных последовательностей микроРНК человека, которая позволит облегчить поиск и анализ сайтов с целью выявления и прогнозирования ассоциаций для быстрой диагностики трех социально-значимых заболеваний. На основе полученных данных, предложены конкретные ассоциации микроРНК, участвующие в патогенезе инфаркта миокарда, болезни Альцгеймера, немелкоклеточного рака легкого, которые в свою очередь, после экспериментального подтверждения могут быть использованы в качестве диагностикумов. Результаты сравнительного *in silico* анализа сайтов связывания микроРНК в мРНК ортологичных генов, создают предпосылки для выбора экспериментальной животной модели с целью подтверждения регуляции исследуемых генов-мишеней посредством микроРНК в эксперименте.

Кроме того, результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, переведены на казахский язык и внедрены в учебный процесс при чтении элективного курса «Геномика және протеомика негіздері» у групп бакалавриата 3 курса специальности 5В060700 «Биология».

Данные диссертации отражены в 19 печатных работах, из которых 5 статей входящих в перечень Комитета по контролю в сфере образования и науки и 14 тезисов доложенных на международных конференциях.

6. Замечания, предложения по диссертации

1. По тексту неоднократно встречаются незаконченные или не согласованные предложения, что ухудшает общее понимание материала диссертации.

2. В разделе материалы и методы отсутствует ссылка на доступ к программе MirTarget. Ссылки на 2 статьи описывают лишь анализ получаемых с помощью этой программы результатов и общий рабочий процесс, без указания используемого математического аппарата и алгоритмов, в связи с чем сложно оценить работоспособность программы MirTarget и валидность получаемых ею данных.

3. По тексту диссертации не совсем понятно почему для одного заболевания (инфаркт миокарда) использовали уровень экспрессии генов ниже и выше 30 RPKM, а для других заболеваний (болезнь Альцгеймера и немелкоклеточный рак) оценивали уровни экспрессии мРНК до 10 RPKM и свыше 10 RPKM?

4. В таблицах 5, 6 и 7 представлены данные некоторых генов с нулевой экспрессией (0 RPKM). Чем обусловлен выбор этих генов?

5. Таблица 15 располагается слишком далеко от текста, который на нее ссылается, что в свою очередь создает неудобство при анализе результатов.

6. Раздел 3.4, описывает взаимодействие miR-1322 с генами, участвующими в некоторых социально значимых заболеваниях. Нет четкого обоснования выбора этой микроРНК.

7. В разделе 3.4 предлагаются животные модели для изучения экспрессии некоторых генов с помощью miR-1322. В качестве животных моделей предлагаются – горилла, боливийский саймири (вид приматов обитающих в Южной Америке), обыкновенная игрунка (вид приматов), зеленая мартышка. Насколько адекватны предлагаемые модели животных, для последующих исследований?

8. Раздел 3.6 описывает характеристики взаимодействия miR-5p/miR-3p с мРНК гена RTL1 человека. Однако не совсем понятен выбор пар miR-5p и miR-3p для детального анализа.

9. В обсуждении делаются полумерные выводы. Например о том, что мРНК генов, уровень экспрессии которых выше 10 RPKM содержат большое число одиночных сайтов связывания, редко организованных в кластеры. Однако о чем это может говорить или какой биологический смысл может нести, автор диссертации не говорит.

10. Порядок выводов не соответствует порядку задач сформулированных в начале диссертации.

11. В качестве пожелания, было бы неплохо, если бы автором работы, были проведены экспериментальные исследования, подтверждающие расчеты полученные *in silico*.

Однако все указанные замечания и пожелания не снижают значимости представленной работы.

7. Соответствие содержания диссертации в рамках требований Правил присуждения ученых степеней

Диссертационная работа, выполненная Юриковой Оксаной Юрьевной полностью соответствует требованиям «Правил присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертационным работам. Таким образом, соискатель Юрикова О. Ю. заслуживает присуждение ученой степени доктора философии (PhD) по специальности «6D070100-Биотехнология».

Официальный рецензент:
Зав. лабораторией вирусологии
АО «Научный центр противоинфекционных препаратов», к.б.н. Коротецкий И.С.

Қолын растаймын
Подпись Коротецкого И.С. заверяю
Мамандар бөлімінің басшысы
Начальник отдела кадров
«07» 02 2020 ж.

КАДР БӨЛІМІ
ОТДЕЛ КАДРОВ

07.02.2020