

О Т З Ы В

официального оппонента,

**доктора биологических наук, Лавряшиной Марии Борисовны
на диссертационную работу Колесникова Никиты Александровича
«Идентичные по происхождению блоки и регионы высокой гомозиготности в
геномах коренного населения Сибири: происхождение, распространение,
адаптивная значимость», представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика**

Актуальность темы выполненной работы. Коренное население Сибири и Крайнего Севера, длительное время, эволюционировавшее в условиях относительной географической, генетической и культурной изоляции, начиная с первой трети XX века вступило в процессы вхождения в современное общество. Это повлекло за собой смену образа жизни (хозяйственной деятельности, питания, культурных традиций), усиление темпов межэтнического смешения (в ряде случаев привело к полной или частичной культурной и биологической ассимиляции) и иные эффекты. В силу вышеуказанных событий, по естественным причинам, здесь сложилась абсолютно уникальная, с позиции исследовательского процесса, ситуация. С одной стороны, генофонд сибирских популяций все ещё сохраняет исходные предковые черты, что позволяет анализировать историю его формирования, выявлять миграционный компонент, а также события и явления, повлиявшие на генетическую структуру популяций через действие демографических факторов. С другой, регистрируется быстрая трансформация генофондов и, следовательно, возникает не менее уникальная возможность анализа последствий этого процесса для выявления и изучения возможных путей и механизмов биологической адаптации в новых условиях, как на популяционном, так и индивидуальном уровне.

Генофонды коренных сибирских популяций находятся в фокусе научного интереса уже более полувека. Однако до настоящего времени на геногеографической карте народов Сибири фиксируются «белые пятна», что отражает отсутствие какой-либо системы при проведении подобного рода исследований, реализуемых на энтузиазме и в рамках интересов отдельных научных групп. Старт таким исследованиям в Сибири был дан работами Ю.Г. Рычкова в 1960-е годы XX века. С тех пор постоянное совершенствование молекулярно-генетических методов, повышение чувствительности и информативности маркерных техник, а также математического аппарата определяют окно возможностей к проведению популяционно-генетического анализа на принципиально ином уровне, расширяют и детализируют представления о генофондах сибирских народов, открывают новые перспективы практического использования накопленных данных. Именно в данном ключе реализован исследовательский подход в диссертации Колесникова Н.А.

Применение самых передовых методов молекулярно-генетического исследования, новых систем генетических маркеров, апробация инструментария

биоинформатики в проблемном поле популяционной и эволюционной генетики при изучении уникального объекта – генофонда коренных популяций Сибири – все перечисленное, по сути, определяет и характеризует актуальность цели, задач, а главное результатов диссертационного исследования Колесникова Н.А., нацеленного на изучение и характеристику структуры популяций коренного населения Сибири на основе анализа идентичных по происхождению блоков (IBD) и регионов высокой гомозиготности (RON). Необходимо отметить, что закономерности распределения RON в геноме человека позволяют лучше понять генетико-демографическую историю популяций, оценить уровень инбридинга, выявить регионы подверженные отбору. При сканировании регионов с избытком обмена IBD могут быть идентифицированы регионы генома, которые находятся под очень недавним и сильным отбором. Кроме того, сегменты IBD могут также, как и RON, использоваться для оценки демографической истории, включая эффект бутылочного горлышка и потоки генов в популяциях.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна. В ходе выполнения диссертационного исследования Колесниковым Н.А. были сформулированы научные положения и выводы, основанные на большом количестве фактического материала с применением адекватных целям и задачам исследования методов и математического аппарата. Достоверность результатов исследования сомнений не вызывает.

Научная новизна. Несмотря на полувековую историю исследования генетической структуры коренного населения Сибири на настоящий момент в опубликованной литературе фиксируются лишь единичные исследования, в которых коренные сибирские популяции изучены на основании анализа идентичных по происхождению блоков и регионов высокой гомозиготности по данным генотипирования SNP-чипов высокой плотности с использованием современных биоинформационных подходов. В связи с этим новизна научных результатов, полученных в диссертации Колесникова Н.А., очевидна и обусловлена следующими моментами: по сути, это первое системное масштабное исследование генофондов коренных сибирских народов на уровне высокоплотных чипов, которое позволило заполнить существующий пробел в геногеографической карте населения Сибири. Автором диссертации впервые проведен подробный анализ состава генофонда и генетического разнообразия коренных народов не только Сибири (20 популяций, 15 этнических групп), но и Северной Евразии (76 популяций, 62 этнические группы) с использованием методики выявления IBD-сегментов и RON регионов. Это позволило Никите Александровичу подробно описать генофонды изученных популяций, выявить демографические экспансии на территории Сибири и определить причины, которые привели к тем или иным структурным изменениям в геноме. Так же в рамках выполненного исследования Колесников Н.А., охарактеризовав структуру генофонда коренных сибирских популяций на уровне высокоплотных чипов, получил уточненные данные о

генетической variability ряда популяций, выявил гены и генетические маркеры, задействованные в адаптивной эволюции генетической структуры популяций Сибири, проанализировал влияние естественного отбора в аспекте адаптации генофонда популяций к факторам окружающей среды.

Таким образом, результаты диссертационной работы Колесникова Н.А. вносят весомый вклад в развитие нового направления в эволюционной, популяционной генетике и эволюционной медицины, связанного с поиском сигналов адаптивной эволюции генофонда популяций человека.

Значимость выводов и результатов, полученных в диссертации для науки и практики. Как уже отмечалось ранее, коренное население Сибири до настоящего времени в той или иной степени сохраняет уникальность своего генофонда. Это определяет не только актуальность, но и научно-практическую значимость исследования генетической структуры коренных сибирских популяций методами и инструментарием современных естественных и точных наук, так как позволяет одновременно достигать нескольких целей, каждая из которых обладает собственной значимостью, как прикладной, так и фундаментальной.

С одной стороны, методологические подходы молекулярной генетики позволяют реконструировать историю (сложение, миграции и иные исторические события) народов, у которых в силу объективных причин фиксируется недостаток либо отсутствие источников исторических данных (отсутствие письменности, археологических памятников и так далее). Полученные в этой части результаты безусловно вызовут интерес и будут востребованы специалистами в области гуманитарных наук – истории, этнографии, социальной антропологии. Также результаты диссертационной работы Колесникова Н.А. обладают информационной ценностью и, собственно, для популяционных и эволюционных генетиков. Это определяется поступающими в оборот новыми научными данными, касающимися таких характеристик генофонда коренного населения Сибири как суммарная длина и изменчивость длинных ROH, величины коэффициентов геномного инбридинга, распределение блоков IBD разной длины в контексте генетико-демографической истории отдельных региональных и этнических групп, а также выявления генов, находящихся под направленным естественным отбором.

С другой стороны, в работе диссертанта апробируются и подтверждают свою эффективность методы и подходы биоинформатики. Это ставит результаты исследования Колесникова Н.А. на качественно новый уровень и открывают технические возможности – торят пути решения проблем в области популяционной, эволюционной и демографической генетики на основе синтеза инструментария генетики и биоинформационных технологий.

Общая характеристика диссертационной работы. Диссертационная работа Колесникова Н.А. написана в классическом стиле, качественным научным и литературным языком. Состоит из Введения, трех глав: Обзор литературы, Материалы и методы диссертационного исследования, Результаты и обсуждение. В

работе также содержатся такие разделы как: Заключение, Выводы, Список литературы, Список сокращений и Приложение.

Обзор литературы логично структурирован. Основную часть, посвященную биоинформационным методам и подходам в исследовании генетической структуры популяций человека, автор диссертационного исследования предваряет обсуждением вопросов актуальности изучения генетического разнообразия популяций в том числе, региональной и внутриэтнической структурированности разнообразия коренного населения разных регионов. Далее дается общая характеристика различных систем, применяемых с этой целью генетических маркеров (классические маркерные системы и ДНК-маркеры аутосом, Y-хромосомы и мтДНК), анализируются их достоинства и ограничения. В том же ключе Колесников Н.А. рассматривает такие системы как регионы высокой гомозиготности (ROH) и сегменты генома, идентичные по происхождению (IBD), поясняет возможности и перспективы их применения в генетике популяций, в частности, для оценивания уровня инбредности популяций через коэффициент геномного инбридинга (F_{ROH}), а также для поиска сигналов отбора в популяциях человека на основе гомозиготности гаплотипов.

В разделе, посвященном биоинформационным методам исследования популяций человека Колесников Н.А. кратко, но емко обсуждает основные способы визуализации и анализа генетических маркеров – метод главных компонент (PCA – Principal components analysis) и метод, использующий алгоритм кластеризации Admixture. Автор исследования указывает, что современные методы, применяемые в молекулярно-генетических исследованиях, и новые биоинформационные подходы позволяют достоверно выявлять различные предковые генетические компоненты в составе генофонда различных народов и отдельных людей, реконструировать миграционные события, генетико-демографические процессы, эффекты основателя и адаптацию к условиям обитания. Колесников Н.А. также приводит данные об этногенезе коренных народов Сибири, используемые для их описания классификационные схемы (антропологические и лингвистические) и современное расселение.

Как свидетельствуют данные приведенные автором диссертации, успехи популяционной генетики в области изучения генетического разнообразия обусловлены как обнаружением различных типов информативных генетических маркеров, так и активным развитием технологий их генотипирования. Современные методы и подходы позволяют достоверно выявлять различные предковые генетические компоненты в составе генофонда различных народов и отдельных людей, реконструировать миграционные события, генетико-демографические процессы, факторы микроэволюции и адаптацию к условиям обитания. Обзор литературы приведен на 26 страницах, что составляет менее 15% объема диссертации. Некоторый сдвиг в структуре диссертаций в сторону преобладания фактических данных – это реальность всех современных работ в области молекулярной и клеточной биологии, когда обсуждаемые результаты

исследования сопровождаются значительным по объему приложением с табличными и иными материалами – 40 страниц текста в оппонируемой работе.

В главе «Материалы и методы диссертационного исследования» дано описание изучаемого объекта и методов исследования: приводится характеристика обследованных популяционных выборок (20 популяций, 15 этнических групп – собственные данные; с привлеченными для сравнения в совокупности – 76 популяций, 62 этнические группы), включая их численность (после исключения родственных индивидуумов, в результате анализа IBD и родословных, а также «выбросов» в результате анализа t-SNE – 1836 чел.), территориальную локацию и иные данные (лингвистические и антропологические характеристики). В данной части материалы иллюстрируются картами географического положения популяций и табличными материалами. Далее описываются методы подготовки материала для генотипирования ДНК-маркеров и, собственно, полногеномное генотипирование с использованием платформы Infinium Multi-Ethnic Global BeadChip (Illumina). В главе также приводится характеристика обработки данных методами биоинформатики, включая оценку качества генотипирования с использованием GenomeStudio (модуль генотипирования v2.0.3) – пакета программ, который Illumina разработала для анализа полученных геномных данных, а также способов дальнейшего повышения качества сформированных материалов (за счет исключения образцов, имеющих более 5% пропущенных SNP, а также образцов потомков от смешанных браков, выявленных с помощью методов определения общих IBD, построения t-SNE и Admixture). Кроме того, в данной главе описывается процедура фазирования генотипа с использованием программного обеспечения Beagle 4.1. и иные подходы, примененные в исследовании (анализ компонентного состава генофонда методами PCA, t-SNE и Admixture; выявление IBD-сегментов; выявление горячих точек ROH и т.д.).

В главе «Результаты и обсуждение» Колесников Н.А. поэтапно, согласно логике работы, приводит и обсуждает полученные в ходе выполнения диссертационного исследования результаты. Первый этап исследования, посвященный анализу главных компонент, позволил соискателю выявить интегральные характеристики суммарного генофонда. Далее анализируются и обсуждаются результаты изучения предковых компонент с помощью алгоритма Admixture, показавшие, что картина их распределения согласуется с географическим местоположением исследуемых популяций, привязкой к конкретному региону и антропологическими различиями. Рассматривая перспективы применения данного метода Никита Александрович заключает, что практика подхода, реализуемого в Admixture, демонстрирует высокую эффективность при анализе значительных массивов данных и позволяет проводить тщательный детальный анализ генетической субструктуры популяций.

Следующим этапом диссертационного исследования стало изучение распределения ROH с целью описания особенностей генофондов изученных популяций с перспективой реконструкции генетико-демографических процессов.

Для идентификации ROH в работе использованы два подхода – метод «наблюдения», реализованный в программе Plink, и на основе математических моделей с помощью программного обеспечения GARLIC. Последующие шаги согласно запланированному алгоритму диссертационного исследования включают обсуждение результатов выявления горячих точек ROH, блоков IBD и сигналов направленного отбора тестами nSL, iHS и XP-EHH (пакет SelScan).

В Заключении Колесников Н.А. кратко суммирует полученные данные и подводит итоги исследования, нашедшие отражение в выводах, раскрывающих заявленную в работе цель и позволяющие утверждать, что задачи, которые Никита Александрович поставил перед собой – полностью решены.

Материал диссертации изложен на 176 страницах. Список цитированной литературы включает 147 источников, из них 116 иностранных и 31 отечественный. Работа отлично иллюстрирована цифровыми и графическими материалами, содержит 18 таблиц и 22 рисунка.

Достоверность результатов исследования. Убедительность, достоверность и обоснованность выводов диссертации обеспечивается четкой продуманностью дизайна исследования, объемом (1836 индивидов, в среднем 24 образца на популяцию), географией выборок, охватом популяций (суммарно 76), применением обоснованного и адекватного целям исследования биоинформационного аппарата. Работа отличается тщательностью и адекватностью использованных методов и подходов, корректной интерпретацией результатов исследования, проработанностью полученных выводов, полностью отвечающих цели и задачам исследования.

Рекомендации по использованию результатов и выводов. В целом, выполненное Колесниковым Н.А. исследование значительно расширяет современные представления о генофонде населения Северной Евразии и вносит вклад в понимание вопросов исторического развития и эволюции человечества. Материалы работы также могут быть использованы в научно-образовательном процессе при создании курсов лекций для студентов биологических, медицинских, исторических специальностей, а полученные – применены в разработке систем и стандартов генетических маркеров ДНК-идентификации, наполнения референтных баз данных для ДНК-тестирования и геномной регистрации. Таким образом, к возможным областям практического использования можно отнести криминалистику, судебную и геномную медицину.

Сведения о полноте опубликованных научных работ. Материалы диссертационной работы доложены на международной научной конференции молодых ученых «Актуальные проблемы медицинской генетики» (Томск, 2018); VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированных симпозиумах (Санкт-Петербург, 2019); всероссийском Конгрессе молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (Томск, 2020). По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ, входящих в перечень

БАК, в том числе, 3 – в журналах, индексируемых в базах Web of Science или Scopus.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации. Автореферат диссертации Колесникова Никиты Александровича полностью соответствует основным положениям диссертации. В автореферате отражены актуальность исследования, степень разработанности темы, цели, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения выносимые на защиту и полученные результаты.

Общие вопросы и замечания по работе. Отмечая несомненную фундаментальную и прикладную ценность работы, можно сделать некоторые замечания, безусловно, не снижающие ценности полученных автором диссертационного исследования результатов. Есть определенная небрежность в оформлении как самой диссертации, так и автореферата диссертации – орфографические ошибки, опечатки, стилистические погрешности.

1. Так, на странице 34 диссертации написано: «В конце двадцатого века численность коренного населения Сибири не превышала 32 млн. человек, из них около 2 млн. являлись коренными жителями края».
2. На странице 34 приводятся численности народов по данным переписи 2010 года, а на странице 37 отчего-то за 2002.
3. Принимая во внимание, что антропологическая и лингвистическая характеристика исследованных народов Сибири не является задачей диссертационного исследования, вызывает определенное недоумение отсутствие ссылок на авторов классификационных схем, в том числе, наиболее признанных в настоящее время в антропологии классификации народов Сибири Багашева А.Н. и других.

В процессе ознакомления с диссертационной работой Колесникова Н.А. возникло несколько вопросов.

1. По мнению автора диссертации, может ли большее количество коротких IBD блоков в некоторых сибирских популяциях говорить об эффектах отбора?
2. В чем может заключаться причина различий по ROH и коэффициенту геномного инбридинга между двумя изученными в диссертационном исследовании выборками хакасов?
3. В спектр выборок, охваченных в диссертационной, не вошли такие интересные сибирские народы как ненцы, манси, селькупы, кумандинцы, челканцы, тубалары и достаточно многочисленная и разнообразная по составу группа сибирских татар. Планирует ли автор диссертации в дальнейшем продолжение исследований и расширение количества этнических выборок для определения IBD, ROH , F_{ROH} и отбора?

Заключение. Диссертационная работа Колесникова Никиты Александровича «Идентичные по происхождению блоки и регионы высокой гомозиготности в геномах коренного населения Сибири: происхождение,

распространение, адаптивная значимость», выполненная под руководством доктора биологических наук Харькова Владимира Николаевич представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится новое решение актуальной научной задачи, имеющей важное значение для популяционной и эволюционной генетики – выявление этноспецифических особенностей структуры геномов и популяционных генофондов современных популяций человека, реконструкции древних миграций и экспансии численности населения, а также эволюции генофондов на основе синтеза методологии молекулярной генетики и биоинформатики.

Диссертационная работа Колесникова Никиты Сергеевича на тему «Идентичные по происхождению блоки и регионы высокой гомозиготности в геномах коренного населения Сибири: происхождение, распространение, адаптивная значимость» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09. 2013 г. № 842 (в редакции с изменениями, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 11.09.2021 №1539), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика (биологические науки).

Официальный оппонент

доктор биологических наук, доцент,
заведующий кафедрой молекулярной и
клеточной биологии
ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный
медицинский университет»
650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а
(3842) 734856
e-mail: lmb2001@mail.ru
м.т. +79059609447

Лавряшина
Мария Борисовна

05.10.2022

Копия верна:

начальник
Я. В. Верешин

