

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Арковой Ольги Владимировны
«Изучение потенциально функционально значимых полиморфизмов ТАТА-боксов
промоторов генов липидного метаболизма человека»,

представленной на соискание степени кандидата биологических наук

по специальности 03.02.07 – генетика

Диссертация О.В.Арковой посвящена формированию библиотеки неисследованных однонуклеотидных полиморфизмов ТАТА-боксов промоторов генов липидного метаболизма человека и их анализе *in silico*, *in vitro* и *in vivo* для выявления потенциально функционально значимых. Выявление однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП, или SNP – single nucleotide polymorphism) кандидатных генов, ассоциированных с наследственными заболеваниями, анализ связи между определенным вариантом последовательности ДНК и патологией с помощью генетических, биоинформационных и молекулярно-биологических подходов имеет большое научное и практическое значение. Изучение молекулярных механизмов, посредством которых нуклеотидные полиморфизмы сайтов связывания транскрипционных факторов могут оказывать влияние на фенотипические признаки, является актуальным и перспективным направлением.

Цель работы заключалась в формировании библиотеки неаннотированных ОНП ТАТА-боксов промоторов генов липидного гомеостаза человека и их анализе *in silico*, *in vitro* и *ex vivo* для выявления потенциально функционально значимых полиморфизмов.

В представленной работе впервые в мире проведено компьютерно-экспериментальное исследование, включающее компьютерное предсказание и экспериментальную верификацию неаннотированных однонуклеотидных замен ТАТА-боксов промоторов генов человека. Компьютерный анализ для прогноза значимости последовательностей был проведен с использованием разработанного в ИЦиГ СО РАН компьютерной системы SNP_TATA_Comparator. Экспериментальная верификация *in vitro* с использованием метода задержки ДНК в геле, метода остановленной струи и флуоресцентного резонансного переноса энергии, и *in vivo* на культуре клеток показала высокую корреляцию опыт/прогноз ($r=0.89$). В работе впервые получены кинетические характеристики комплексов ТСБ с олигодезоксинуклеотидами, идентичными ТАТА-боксам с фланкирующими нуклеотидами анцестральными и минорными аллелями ряда генов человека, которые по прогнозам могут быть ассоциированы с повышенным риском возникновения наследственных нарушений энергетического метаболизма.

В работе О.В.Арковой определены кинетические и термодинамические характеристики комплексов ТВР-ТАТА с помощью метода EMSA, определены в режиме реального времени кинетические характеристики комплексов ТВР/ТАТА методами остановленной струи и резонансного переноса энергии. О.В.Арковой получены плазмидные конструкции с анцестральными и минорными аллелями, содержащими полиморфизмы в ТАТА-боксах промоторов генов *LEP* и *CYP2A6*, рассмотрено их влияние на экспрессию репортерного гена *LUC*. Как показали эксперименты *ex vivo* на

культуре клеток аденокарциномы кишечника и молочной железы, влияние выявленных ОНП на экспрессию репортерного гена *LUC* коррелирует со средством ТВР/ТАТА.

Экспериментальная верификация с использованием различных молекулярно-биологических и биофизических методов, разработанного Web-сервиса SNP_TATA_Comparator, показала, что ОНП ТАТА-боксов действительно обладают потенциалом функциональной значимости. Результаты данной работы имеют перспективы для применения в генетике, молекулярной и практической медицине, в том числе в предиктивно-превентивной персонализированной медицине.

В автореферате представлены решаемые задачи, используемые методы и полученные результаты. Автореферат написан грамотным русским языком, материал изложен в логичной и обстоятельной форме, опечаток нет. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе, 9 статей в журналах из перечня Высшей Аттестационной Комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации. Результаты были представлены и обсуждены на международных конференциях, получили одобрение ведущих специалистов. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключение обоснованы, работа представляет собой законченное научное исследование.

Диссертационная работа Арковой Ольги Владимировны «Изучение потенциально функционально значимых полиморфизмов ТАТА-боксов промоторов генов липидного метаболизма человека», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является завершенным научно-квалификационным исследованием, направленным на решение важной проблемы исследования регуляторных нуклеотидных полиморфизмов. Актуальность исследования, высокий методический уровень, новизна, теоретическая и практическая значимость работы позволяют сделать вывод о том, диссертация О.В. Арковой отвечает требованиям п.9 Положения "О порядке присуждения ученых степеней" N 842 от 24 сентября 2013 г., с внесенными изменениями от 21 апреля 2016 г. № 335, предъявляемым к диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата биологических наук.

к.ф.-м.н., научный сотрудник Лаборатории вычислительных методов системной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН). ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

Анашкина Анастасия Андреевна

05 февраля 2018г

Подпись Анастасии Андреевны Анашкиной
ученый секретарь ИМБ РАН
Бобарев А.А.

