

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора,

доктор биологических наук

 Р.А. Максютков



« 15 » сентября 2018 г.

Отзыв

ведущей организации о научно-практической ценности диссертации

Арковой Ольги Владимировны

на тему «Изучение потенциально функционально значимых полиморфизмов ТАТА-боксов промоторов генов липидного метаболизма человека» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика

Актуальность избранной темы

Проблема определения молекулярных механизмов генетической предрасположенности к различным заболеваниям человека является фундаментальной проблемой генетики, молекулярной биологии и медицины. Одним из активно развивающихся направлений является выявление однонуклеотидного полиморфизма (SNP) кандидатных генов и определение связей между вариантом ДНК и патологией. Однонуклеотидные замены могут нарушать сайты связывания транскрипционных факторов и приводить к аллель-специфичной экспрессии генов, разной чувствительности к факторам внутренней и внешней среды, различной чувствительности к терапевтическому лечению и т.д. Поэтому выявление SNPs, которые могут оказывать влияние на экспрессию генов и фенотипические признаки, является актуальным и важным направлением исследований.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Выполненная работа связана с такими направлениями развития науки, как «Генетические основы биотехнологий и биоинформатика» (№ 0324-2016-0008); «Молекулярно-генетические основы регуляции экспрессии генов, морфологии, дифференцировки и перепрограммирования клеток» (№ 0324-2016-0003); «Клеточные и молекулярно-генетические механизмы контроля адаптивных и патологических процессов у человека и животных» (№ 0324-2016-0002).

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе Арковой О.В. экспериментально изучаются ранее не исследованные варианты SNP TATA-боксов ряда генов липидного метаболизма человека (LEP, GCG, ABCA9 и др.) и способность оказывать влияние на транскрипционный фактор – TATA-связывающий белок (ТВР). SNPs TATA-боксов отобраны из баз данных и проанализированы с помощью разработанной в ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ ИЦиГ СО РАН) программы для предсказания изменения сродства ТВР к SNP-содержащим TATA-боксам.

На основании проведенных исследований диссертантом, во-первых, делается вывод об эффективности разработанного в ФИЦ ИЦиГ СО РАН программного продукта (Web сервис SNP_TATA_Comparator) для отбора SNPs TATA-боксов, потенциально обладающих способностью влиять на взаимодействие с транскрипционным фактором ТВР. Показано, что экспериментальные данные очень хорошо коррелируют с прогнозом. Во-вторых, в работе исследовано влияние SNP TATA-боксов на скорость образования и распада комплексов ТВР с его участками-мишенями в анцестральных и минорных аллелях, и на сродство ТВР/TATA. Впервые

показано, что при изменении сродства ТВР к его сайту связывания, ТАТА-боксу, изменяются скорости образования и распада комплексов ТСБ/ТАТА. Исследовано взаимодействие ТВР с флуоресцентно меченными двуцепочечными дуплексами, идентичными ТАТА-содержащим участкам промоторов, в режиме реального времени. В результате впервые показано, что образование комплексов ТВР/ТАТА может происходить как по прямому пути, так и через промежуточные стадии, число которых зависит от концентрации ТВР и длины ТАТА-содержащих олигонуклеотидов.

В работе также исследовано влияние однонуклеотидных замен ТАТА-боксов на экспрессию репортерного гена люциферазы в культурах клеток. Показана корреляция влияния ($r = 0.99$) SNP ТАТА-боксов на сродство ТСБ/ТАТА и на экспрессию репортерного гена.

Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов

Автором впервые получены кинетические характеристики комплексов ТВР с олигонуклеотидами, идентичными ТАТА-боксам с фланкирующими нуклеотидами анцестральных и минорных аллелей ряда генов человека, которые по прогнозам могут быть ассоциированы с повышенным риском возникновения нарушений липидного гомеостаза.

Автором впервые получены данные, свидетельствующие о том, что изменение сродства ТВР/ТАТА при содержании однонуклеотидных замен в ТАТА-боксе происходит через изменение скоростей образования и распада комплексов ТВР/ТАТА. На культуре клеток человека показана корреляция влияния SNPs на сродство ТВР/ТАТА и на экспрессию репортерного гена люциферазы.

Изучение в режиме реального времени взаимодействия ТВР с мечеными FRET-парой флуорофоров TAMRA и FAM дуплексами, идентичными ТАТА-боксам промоторов референсных генов LEP и TPI и их минорным аллелям, методом остановленной струи с регистрацией FRET-

сигнала показало, что образование комплексов ТВР/ТАТА может происходить как по прямому пути, так и по разветвленному, через промежуточные стадии, вероятность возникновения которых возрастает с увеличением концентрации ТВР.

Полученные в работе экспериментальные результаты свидетельствуют о возможности эффективного использования разработанного в ФИЦ ИЦиГ СО РАН биоинформатического инструмента SNP_TATA_COMPARATOR для доклинической проверки кандидатных SNP-маркеров ТАТА-боксов в предиктивно-превентивной персонализированной медицине, что является значимым результатом для науки и медицины.

Научные выводы и заключения, сделанные в работе, экспериментально обоснованы, соответствуют полученным результатам и не вызывают сомнений.

Диссертация представляет собой завершенное исследование, основные результаты которого представлены в десяти статьях, опубликованных как в российских, так и иностранных научных журналах, входящих список журналов ВАК. Диссертация содержит все необходимые разделы, содержание автореферата соответствует материалу, изложенному в диссертации.

Вместе с тем, следует отметить и недостатки, допущенные автором при оформлении диссертации.

В тексте диссертации одной из поставленных задач указывается формирование электронной библиотеки и компьютерный анализ неаннотированных SNP ТАТА-боксов промоторов генов липидного метаболизма человека (стр. 9). Раздел 3 - Результаты - начинается с перечисления выбранных генов-мишеней, но сам процесс анализа и выбора остается за рамками разделов диссертации.

В Разделе 2 – Материалы и Методы нет ссылок на используемый в исследовании «метод остановленной струи» и оборудования, с помощью которого получены результаты, представленные на рисунках 16 и 17.

Так же нельзя не отметить небрежность оформления текстов диссертации и автореферата, заключающихся в не совсем удачном названии диссертационной работы, нелогичности компоновки ее разделов, переносе части результатов с рисунками в Раздел 2 – Материалы и Методы, отсутствия единообразия в применении сокращений, опечатки. Такого рода замечания могли быть исправлены на любой из стадий подготовки диссертационной работы.

Автору следовало бы сделать заключение по диссертационной работе более компактным, акцентированным на основных результатах, исключив мелкие подробности.

Тем не менее, следует отметить, что в целом высказанные замечания не носят принципиального характера и не умаляют достоинств данной работы, научная и практическая ценность которой не ставится под сомнение.

Заключение. Таким образом, 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 законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи анализа неаннотированных SNPs ТАТА-боксов, имеющей существенное значение для генетики человека, молекулярной медицины и биологии, что может внести важный вклад в интенсивно развивающееся направление персонализированной медицины.

По общему содержанию представленных материалов, актуальности, новизне полученных данных диссертационная работа Арковой Ольги Владимировны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке

присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени – кандидата биологических наук по специальности: 03.02.07 – генетика.

Отзыв на диссертацию и автореферат Арковой Ольги Владимировны обсужден и принят на заседании Ученого совета Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Протокол № 15 от 29 декабря 2017 г.).

Кандидат биологических наук,
заведующий сектором
отдела биофизики и экологических исследований
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.



А.В. Колосов

Подпись А.В. Колосова заверяю
Ученый секретарь
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
кандидат биологических наук, доцент



О.А. Плясунова

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово,
+7(383)336-60-10
kolosov@vector.nsc.ru