

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____

Дата защиты 14 октября 2020 г. протокол №19

О присуждении Зыцарь Марине Вячеславовне
ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация «Аллельное разнообразие гена *GJB2* у населения ряда регионов Сибири» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 19 февраля 2020 года, протокол № 5, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Зыцарь Марина Вячеславовна, 1992 года рождения. В 2015 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск.

С 01.10.2015г. по 30.09.2019г. Зыцарь М. В. обучалась в очной аспирантуре ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, в настоящее время работает младшим научным сотрудником в секторе изучения моногенных форм

распространенных заболеваний человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной генетики человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

Научный руководитель: **Посух Ольга Леонидовна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН».

Официальные оппоненты:

1. **Щербаков Дмитрий Юрьевич** – доктор биологических наук, заведующий лабораторией геносистематики, ФГБНУ «Лимнологический институт» СО РАН, г. Иркутск.

2. **Бабушкина Надежда Петровна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (Томский НИМЦ), г. Томск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук» (ИМКБ СО РАН), г. Новосибирск, в своём положительном заключении, подписанном заведующим отделом разнообразия и эволюции геномов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН» член-корр. РАН, д.б.н. Графодатским А. С. и заведующим лабораторией сравнительной геномики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», д.б.н. Трифоновым В. А. и утверждённом директором Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт

молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук» д.б.н. Демаковым С. А. указало, что «Представленная работа Зыцарь Марины Вячеславовны обладает научной новизной и готова к защите. Тема работы, безусловно, соответствует научной специальности – 03.02.07 – генетика. Выводы обоснованы полученными данными. Результаты диссертационной работы, выносимые на защиту, прошли апробацию на международных и отечественных конференциях и опубликованы в виде шести статей в журналах, рекомендованных ВАК. Представленная работа по своей актуальности, научной новизне, теоретической значимости результатов полностью отвечает требованиям «Положения о присуждении научных степеней», утверждённого постановлением Представительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Зыцарь Марина Вячеславовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07. – генетика.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на семинаре Отдела разнообразия и эволюции геномов от 5 мая 2020 г., протокол № 82.»

Соискатель имеет всего 32 публикации, из них по теме диссертации – 16: 6 статей, опубликованных в научных рецензируемых изданиях (Web of Science и Scopus) общим объём 58 стр., и 10 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. Posukh O.L., **Zytsar M.V.**, Bady-Khoo M.S., Danilchenko V.Yu., Maslova E.A., Barashkov N.A., Bondar A.A., Morozov I.V., Maximov V.N., Voevoda M.I. Unique Mutational Spectrum of the *GJB2* Gene and its Pathogenic Contribution to Deafness in Tuvinians (Southern Siberia, Russia): A High Prevalence of Rare Variant c.516G>C (p.Trp172Cys) // *Genes*. – 2019. – V. 10. – P. 429. doi.org/10.3390/genes10060429. (Scopus, WOS. Impact Factor 3.484)

2. **Zytsar M.V.**, Barashkov N.A., Bady-Khoo M.S., Shubina-Olejnuk O.A., Danilenko N.G., Bondar A.A., Morozov I.V., Solovyev A.V., Danilchenko V.Yu., Maximov V.N., Posukh O.L. Updated carrier rates for c.35delG (*GJB2*) associated with hearing loss in Russia and common c.35delG haplotypes in Siberia // *BMC Med Genet.* – 2018. – V. 7. – P. 138. doi: 10.1186/s12881-018-0650-5. (Scopus, WOS. Impact Factor 2.168)
3. Solovyev A.V., Barashkov N.A., Bady-Khoo M.S., **Zytsar M.V.**, Posukh O.L., Romanov G.P., Rafailov A.M., Sazonov N.N., Alexeev A.N., Dzhemileva L.U., Khusnutdinova E.K., Fedorova S.A. Reconstruction of SNP haplotypes with mutation c.-23+1G>A in human gene *GJB2* (Chromosome 13) in some populations of Eurasia // *Russ J Genet.* – 2017. – V. 53. – P. 936–941. doi: 10.1134/S1022795417080099. (Scopus, WOS. Impact Factor 0.505)

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов, все положительные.

Отзывы прислали:

1. Даниленко Н. Г. – к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси (г. Минск).
2. Зинченко Р. А. – д.м.н., профессор, заместитель директора по научно-клинической работе, заведующая лабораторией генетической эпидемиологии, ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (г. Москва).
3. Климов Е. А. – д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник кафедры генетики Биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (г. Москва).
4. Федорова С. А. – д.б.н., заведующая научно-исследовательской лабораторией молекулярной биологии Института естественных наук Федерального государственного автономного образовательного учреждения Высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г. Якутск).

5. Хидиятова И. М. – д.б.н., профессор, заведующая лабораторией молекулярной генетики человека Института биохимии и генетики – обособленного структурного Подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (г. Уфа).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области популяционной генетики, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих институтов в нашей стране в области молекулярно-генетических, популяционных и эволюционных исследований.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказана гипотеза о ведущей роли эффекта основателя в распространенности мажорных рецессивных мутантных аллелей с.516G>C, с.-23+1G>A, с.235delC гена *GJB2*, ассоциированного с потерей слуха, у коренных жителей Тувы и Алтая и аллеля с.35delG этого гена у русских, проживающих на территории Сибири.

Доказано, что ген *GJB2*, кодирующий трансмембранный белок коннексин 26 (Cx26), у тувинских пациентов с одним рецессивным мутантным аллелем не является причиной наследственной глухоты. Также **выявлено**, что аллель с.[79G>A;341A>G] гена *GJB2* не влияет на потерю слуха у тувинцев и алтайцев.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые изучено распределение частот аллелей STR- и SNP-маркёров в выборках глухих индивидуумов, гомозиготных по рецессивным патогенетическим вариантам с.516G>C, с.-23+1G>A, с.235delC гена *GJB2* у тувинцев и алтайцев и с.35delG у русских, проживающих в Сибири, а также проведена

реконструкция гаплотипов, специфичных для каждого из изучаемых вариантов. **Доказано** сходство предковых гаплотипов для каждого из изученных патогенетических вариантов и определено время их возникновения на территории Сибири: для с.516G>C – ~ 700 лет, для с.-23+1G>A – ~ 4800-2200 лет, для с.35delG – ~ 8100-4800 лет.

Впервые **установлено, что** частота гетерозиготного носительства рецессивного патогенетического варианта с.35delG гена *GJB2* у здоровых индивидуумов из Новосибирской области составляет 4.1%.

У глухих тувинских пациентов с одним рецессивным *GJB2*-аллелем **изучены** области гена *GJB2*, включающие в себя базальный промотор и акцепторный сайт сплайсинга с прилегающими последовательностями, не подвергавшиеся ранее анализу при рутинной молекулярной диагностике. **Показано**, что у этих индивидуумов отсутствуют какие-либо дополнительные патогенетические варианты гена *GJB2*.

Выявлено, что у тувинцев различия по частоте встречаемости моноаллельных рецессивных патогенетических вариантов гена *GJB2* в группе глухих пациентов с неустановленным диагнозом и в контрольной группе статистически не достоверны, т.е., пациенты с одним выявленным рецессивным патогенетическим вариантом гена *GJB2* являются его случайными носителями, что позволяет исключить ген *GJB2* из причин наследственной глухоты у этих пациентов.

Установлено, что варианты с.79G>A и с.341A>G гена *GJB2*, находящиеся в *cis*-положении – аллель с.[79G>A;341A>G], не влияют на потерю слуха у тувинцев и алтайцев, что обосновано превышением частоты встречаемости данного аллеля в контрольных выборках по сравнению с выборками глухих пациентов.

Впервые **изучен** спектр внутригенных однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) гена *GJB2*, определены их частоты в выборках глухих и здоровых индивидуумов из Тувы и Алтая и проведен сравнительный анализ частот 69 SNPs с мировыми популяциями из проекта «1000 геномов».

Показано, что по выявленному аллельному разнообразию гена *GJB2* тувинцы и алтайцы входят в кластер восточно-азиатских популяций.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что получены данные об аллельном разнообразии гена *GJB2* на территории Сибири, наиболее значимого в этиологии нарушений слуха, которые могут быть **использованы** при молекулярно-генетической диагностике случаев потери слуха, в том числе, при постановке диагноза для пациентов с одним рецессивным патогенетическим вариантом гена *GJB2* или аллелем с.[79G>A;341A>G] данного гена, и последующим медико-генетическом консультировании семей, отягощенных патологией слуха.

Полученные соискателем данные вносят существенный вклад в характеристику эволюционно-исторических особенностей генетической структуры популяций коренного населения Сибири и могут быть использованы для организации скрининга рецессивных мутаций гена *GJB2* у населения Сибири.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического и медико-генетического профиля, а также работающих в области популяционной генетики человека, включая ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск), НИИ медицинской генетики (г. Томск), Якутский научный центр комплексных медицинских проблем (г. Якутск) и др.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы молекулярно-генетические методы, которые включают полимеразную цепную реакцию (ПЦР), рестрикционный анализ, электрофорез фрагментов ДНК в агарозном геле, очистку ПЦР-продуктов на магнитных частицах, секвенирование нуклеотидной последовательности ДНК, фрагментный анализ и молекулярное клонирование.

Для генетической дифференциации популяций использовали метод многомерного шкалирования. Реконструкцию гаплотипов проводили с

использованием данных генотипирования STR- и SNP-маркёров и неравновесия по сцеплению в пакете программ «Arlequin» v.3.5.1.2. Возраст анализируемых мутаций оценивали, используя подход «молекулярных часов». Для статистической обработки результатов при сравнении частот аллелей и гаплотипов использовали точный тест Фишера.

Оценка достоверности результатов исследования выявила высокую надёжность и воспроизводимость полученных результатов и наличие всех необходимых для решения поставленных задач этнически стратифицированных выборок. Все экспериментальные исследования выполнены на современном сертифицированном оборудовании, а полученные результаты статистически обработаны и являются значимыми. Используемые биоинформатические программы обработки данных широко используются в статьях по рассматриваемой тематике. Для исключения контаминации при проведении ПЦР использовались отрицательные контроли. Данные о специфичных гаплотипах для патогенетических аллелей с.35delG, с.235delC, с.-23+1G>A и времени возникновения вариантов с.-23+1G>A и с.35delG гена *GJB2* на территории Сибири согласуются с ранее опубликованными данными по другим популяциям.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в планировании и проведении научных экспериментов с последующим обсуждением, обработкой и интерпретацией полученных данных, в апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Основные результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно. Работы по сбору биологического материала проводились к.б.н. Посух О. Л. (старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН») и к.б.н. Бады-Хоо М. С. (лабораторный генетик (цитогенетик) ГБУЗ РТ «Перинатальный центр РТ», г. Кызыл).

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 14. «Популяционная генетика. Генетическая структура популяций.» и п. 17.

«Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни. Генотоксикология. Генотерапия.» паспорта специальности 03.02.07 – генетика.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация Зыцарь М. В. представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям п.п. 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 14 октября 2020 года диссертационный совет принял решение присудить Зыцарь Марине Вячеславовне учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 7 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета,
академик РАН



Шумный

В.К. Шумный

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Хлебодарова

Т.М. Хлебодарова

14.10.2020 г.