

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01
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 30 ноября 2022 г. протокол №30

О присуждении Данильченко Валерии Юрьевны,
Гражданке РФ,
ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация «Анализ генетического контроля наследственной потери слуха в популяциях ряда регионов Сибири» по специальности 1.5.7. – генетика принята к защите 17 августа 2022 года (протокол № 14) диссертационным советом Д 24.1.239.01 (Д 003.011.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (630090, Новосибирск, Россия, пр. ак. Лаврентьева,10). Диссертационный совет 24.1.239.01 (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 Данильченко Валерия Юрьевна, 25 марта 1993 года рождения, в 2015 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» по специальности «биология». В 2021 году окончила очную аспирантуру

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» по направлению 06.06.01 - «биологические науки». В настоящее время работает младшим научным сотрудником сектора 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 – кандидат биологических наук Посух Ольга Леонидовна, работает в должности старшего научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики человека Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Официальные оппоненты:

1. Максимова Юлия Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской генетики и биологии, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск.

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

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (ФГБНУ Томский НИМЦ), г. Томск, в своем положительном отзыве, подписанном руководителем лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» доктором медицинских наук Назаренко М. С. и научным сотрудником лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» кандидатом биологических наук Бабушкиной Н.П. и утверждённом директором ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» академиком РАН, доктором биологических наук, профессором Степановым В.А. указано, что «Диссертационная работа Данильченко Валерии Юрьевны на тему «Анализ генетического контроля наследственной потери слуха в популяциях ряда регионов Сибири» является законченной научно-квалификационной работой, содержит решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для медицинской генетики. Диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335, ред. От 01 октября 2018 г. №1168, ред. От 20.03.2021 №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Данильченко Валерия Юрьевна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. (03.02.07) – Генетика.

Отзыв ведущей организации заслушан и утвержден на семинаре

лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 13 от «19» сентября 2022 года).»

Соискатель имеет 40 публикаций, из них по теме диссертации 19, общим объемом 117 страниц, из них 7 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК (журналы баз данных Web of Science и Scopus), 1 глава в монографии и 11 тезисов международных и российских конференций. Во всех опубликованных работах личный вклад автора был определяющий. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значимые публикации по теме диссертации:

1. **Danilchenko V.Yu.**, Zytsar M.V., Maslova E.A., Bady-Khoo M.S., Barashkov N.A., Morozov I.V., Bondar A.A., Posukh O.L. Different Rates of the SLC26A4-Related Hearing Loss in Two Indigenous Peoples of Southern Siberia (Russia) // *Diagnostics*. – 2021. – Vol. 11. – P. 2378. DOI: 10.3390/diagnostics11122378. (Импакт фактор 3,706 Web of Science).

2. **Данильченко В.Ю.**, Зыцарь М.В., Маслова Е.А., Бады-Хоо М.С., Морозов И.В., Бондарь А.А., Посух О.Л. Анализ мутационного спектра гена SLC26A4 и его вклада в этиологию наследуемой потери слуха у коренного населения Южной Сибири // *Медицинская генетика*. – 2020. – Т. 19. – №7(216). – С. 43-45. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.07.43-45. (Импакт фактор 0,366 РИНЦ)

3. Churbanov A.Y., Karafet T.M., Morozov I.V., **Mikhalskaia V.Yu. (Danilchenko V.Yu.)**, Zytsar M.V., Bondar A.A., Posukh O.L.. Whole Exome Sequencing Reveals Homozygous Mutations in *RAI1*, *OTOF*, and *SLC26A4* Genes Associated with Nonsyndromic Hearing Loss in Altaian Families (South Siberia) //

PLoS One. – 2016. – Vol. 11(4). – P: e0153841. DOI: 10.1371/journal.pone.0153841. (Импакт фактор 3,372 Web of Science).

На диссертацию и автореферат поступило 5 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

1. Монгуш Р. Ш. – к.м.н., директор Научно-исследовательского института медико-социальных проблем и управления Республики Тыва (Республика Тыва, г.Кызыл).
2. Осипова Л. П. – к.б.н., заведующая лабораторией популяционной этногенетики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН» (г.Новосибирск).
3. Трифонов В.А. – д.б.н., заведующий лабораторией сравнительной геномики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН» (г.Новосибирск). «Замечаний по автореферату практически нет. На рисунках 2 и 4 я бы посоветовал в будущем добавлять и представителей контрольной группы, чтобы продемонстрировать, что все районы Республик Алтай и Тыва вовлечены в исследование и наглядней бы выглядела частота встречаемости мутантных аллелей.»
4. Федорова С.А. – д.б.н., заведующая научно-исследовательской лабораторией молекулярной биологии Института естественных наук, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (г.Якутск).
5. Хидиятова И.М. – д.б.н., профессор, заведующая лабораторией молекулярной генетики человека, Институт биохимии и генетики – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН (г.Уфа).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики и медицинской 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 медицинской генетики, популяционных и эволюционных исследований, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований установлено, что генетическая компонента в этиологии потери слуха в обследованных выборках пациентов, относящихся к коренному населению Республик Тыва и Алтай, составляет не менее 50.5% и 34.5%, соответственно.

Доказано, что значительный вклад в этиологию потери слуха у пациентов из Республики Тыва вносят патогенные варианты с.919-2A>G, с.2027T>A, с.1545T>G, с.170C>A и с.2034+1G>A гена *SLC26A4*, кодирующего трансмембранный белок пендрин (pendrin), а у населения Республики Алтай – вариант с.5254G>A в гене *RAI1*, кодирующем транскрипционный фактор RAI1, и вариант с.1111G>C в гене *OTOF*, кодирующем кальций-связывающий трансмембранный белок отоферлин (otoferlin).

Предложена гипотеза, что широкая распространенность варианта с.919-2A>G гена *SLC26A4* среди тувинцев обусловлена эффектом основателя.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что выявлены новые патогенные варианты генов *SLC26A4*, *RAI1* и *OTOF*, ассоциированные с потерей слуха, и изучен спектр их аллельных вариантов, включая и ранее описанные, у коренного населения Республик Тыва и Алтай, что позволило оценить частоту их встречаемости как у

пациентов с неустановленной этиологией потери слуха, так и в популяционных выборках.

Показано, что вклад патогенных вариантов гена *SLC26A4* в этиологию потери слуха существенно различается у тувинцев и у алтайцев и составляет 28.2% и 4.3%, соответственно. **Доказано**, что вариант с.1545T>G гена *SLC26A4* является патогенным и описан впервые только у коренного населения Республики Тыва.

Установлено, что патогенный вариант с.919-2A>G гена *SLC26A4* наиболее распространен у тувинцев и среди всех патогенных вариантов гена *SLC26A4* его доля у пациентов с потерей слуха составляет 69.3%, а частота гетерозиготного носительства в популяционной выборке – 5.1%.

Впервые **изучено** распределение частот аллелей маркёров в выборках глухих индивидуумов, гомозиготных по рецессивному варианту с.919-2A>G гена *SLC26A4*, и в популяционной выборке тувинцев; проведена реконструкция STR- и SNP-гаплотипов, фланкирующих мутацию с.919-2A>G. **Доказано**, что гаплотипы, несущие вариант с.919-2A>G, характеризуются высокой специфичностью и сходством у всех носителей этого варианта, проживающих в Республике Тыва.

Впервые установлено, что рецессивные варианты с.5254G>A в гене *RAI1* и с.1111G>C в гене *OTOF* в гомозиготном состоянии являются причиной потери слуха у коренного населения Республики Алтай и их вклад в этиологию этого заболевания составляет 10.8% и 4.3%, соответственно. **Показано**, что частота гетерозиготного носительства варианта с.5254G>A (*RAI1*) у коренного населения Республики Алтай составляет 3.3%. **Выявлено**, что вариант с.5254G>A у всех его носителей ассоциирован с одним и тем же аллелем.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что получены новые данные о разнообразии аллельных вариантов генов *SLC26A4*, *RAI1* и *OTOF* и их распространенности в популяциях коренного населения Республик Тыва и

Алтай, которые могут быть использованы для разработки регионально-адаптированных методов молекулярно-генетической диагностики случаев наследственной потери слуха, а также для медико-генетического консультирования семей,отягощенных патологией слуха. Применение полученных результатов на практике может ускорить процесс постановки диагноза для пациентов.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций как биологического, так и медико-генетического профиля, занимающихся популяционными исследованиями наследственных патологий человека, и могут быть также использованы в образовательном процессе при подготовке специалистов по медицинской генетике и генетике человека.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр молекулярно-генетических методов, включая полимеразную цепную реакцию (ПЦР), рестрикционный анализ, электрофорез ДНК в агарозном геле, очистку ПЦР-продуктов на магнитных частицах, фрагментный анализ, секвенирование ДНК по Сэнгеру и полноэкзомное секвенирование. Для *in silico* оценки функциональной значимости новых аллельных вариантов генов и реконструкции гаплотипов использованы современные биоинформатические подходы. Для статистической обработки результатов при сравнении частот аллелей и гаплотипов применен точный тест Фишера.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность и воспроизводимость, которая подтверждается экспериментальными данными, полученными с использованием этнически стратифицированных выборок большого объема и адекватными молекулярно-генетическими и биоинформатическими методами, что позволило впервые оценить вклад патогенных вариантов генов *SLC26A4*, *RAI1* и *OTOF* в этиологию потери слуха у коренного населения Республик Тыва и Алтай.

Результаты исследования статистически обработаны, являются достоверными и могут быть использованы другими исследователями. Используемые биоинформатические программы обработки данных широко используются в статьях по рассматриваемой тематике. Для исключения контаминации при проведении ПЦР использовались отрицательные контроли. Научные положения, выносимые на защиту, подтверждены результатами исследований, представленными в виде рисунков и таблиц.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в планировании и проведении научных экспериментов с последующим обсуждением, обработкой и интерпретацией экспериментальных данных, в апробации результатов исследования и подготовке публикаций.

Работы по сбору биологического материала проводились к.б.н. О.Л. Посух (Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск) и к.б.н. М.С. Бады-Хоо (Перинатальный центр Республики Тыва, г. Кызыл).

Полученные соискателем научные результаты соответствуют специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

Диссертационный совет 30 ноября 2022 г. принял решение присудить Данильченко В.Ю. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с выявлением молекулярно-генетических причин наследственных форм потери слуха и анализу их распространенности у коренного населения Республик Тыва и Алтай.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Данильченко В.Ю. аргументировано ответила на все задаваемые в ходе заседания вопросы.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.7. – генетика, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 22, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя
диссертационного совета,
Академик РАН, д.б.н.



А.В. Кочетов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

30.11.2022 г