

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный
исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины»
(ФИЦ ФТМ)**

ул. Тимакова 2, а/я 71 г. Новосибирск, 630060

Тел: (383) 274-95-80, факс (383) 335-97-74

E-mail: director@frcftm.ru

<http://www.frcftm.ru>

ИНН 5408157430 КПП 540801001

ОКПО 49738378 ОГРН 1025403653538

от 30.09.2025 № 02-С4/857

на вх № _____ от _____



ОТЗЫВ

ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Дамарова Игоря Сергеевича

«Полногеномное выявление регуляторных SNPs человека на основе получения и анализа комплекса данных ChIP-seq и RNA-seq», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. - генетика

Актуальность темы исследования. Как известно, регуляторные районы генома содержат кластеры сайтов связывания транскрипционных факторов. В этих районах, транскрипционные факторы, взаимодействуя со своими сайтами связывания, а также с коактиваторными/корепрессорными и хроматин-ремоделирующими комплексами, формируют сложный ансамбль, ответственный за уровень транскрипции генов в зависимости от типа ткани, стадии развития организма и фазы клеточного цикла. Таким образом, транскрипционные факторы являются ключевыми регуляторами начального этапа реализации генетической информации. Следовательно, однонуклеотидные замены, затрагивающие сайты связывания транскрипционных факторов и влияющие на экспрессию генов (регуляторные SNPs, rSNPs), могут играть важную роль в фенотипической изменчивости, в том числе предрасположенности/устойчивости к различным

заболеваниям. Поэтому выявление и изучение таких генетических вариантов представляет большой научный интерес.

В настоящее время самым широко используемым методом, направленным на установление связи между SNPs и фенотипическими признаками, является полногеномный анализ ассоциаций (Genome-Wide Association Studies, GWAS). С помощью данного метода удалось выявить связь более трехсот тысяч SNPs с различными признаками и заболеваниями человека. При этом, более 90% из этих SNPs располагаются в некодирующих, преимущественно в регуляторных районах генома, что предполагает их влияние на связывание транскрипционных факторов и экспрессию генов. Однако технология GWAS не предоставляет никаких сведений о молекулярных механизмах, за счет которых однонуклеотидная замена приводит к формированию того или иного фенотипа. Кроме того, по результатам GWAS крайне трудно определить действительно функциональный вариант среди множества других, находящихся в неравновесии по сцеплению. Поэтому по всему миру разворачиваются работы как по функциональной интерпретации данных GWAS, так и по независимому от GWAS целенаправленному поиску rSNPs в масштабе генома.

Учитывая вышеизложенное, диссертационная работа Дамарова И.С. посвященная полногеномному выявлению rSNPs человека на основании получения и анализа комплекса данных ChIP-seq и RNA-seq, является весьма актуальной.

Научная новизна. На основании анализа аллель-специфических событий в экспериментальных данных ChIP-seq и RNA-seq, полученных автором с использованием моноклеарных клеток периферической крови здоровых людей, выявлены 14796 rSNPs, потенциально оказывающих влияние на экспрессию 5132 генов. Продемонстрирована связь 38.4% найденных rSNPs с различными фенотипическими признаками из каталога GWAS и 66.7% - с изменением экспрессии генов по данным консорциума GTEx. В результате применения сформированной панели rSNPs к независимым транскриптомным данным найдены новые rSNPs, вовлеченные в механизмы развития сахарного диабета второго типа с осложнением в виде диабетической ретинопатией и ответа на антидиабетический препарат метформин, соответственно.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты диссертационной работы Дамарова И.С. расширяют представление об однонуклеотидных заменах в регуляторных районах генома человека. Полученная

в данной работе панель rSNPs, придаёт регуляторное значение большой группе SNPs, идентифицированной в исследованиях GWAS, а также служит независимым подтверждением регуляторной функции значительной группы eQTLs из каталога GTEx. Следовательно, сформированная панель rSNPs может применяться для функциональной интерпретации данных GWAS и eQTL анализа, а также для анализа различных омиксных данных с целью дальнейшего изучения фундаментальных молекулярных механизмов, лежащих в основе формирования того или иного фенотипа, в том числе индивидуального ответа на лекарства.

Структура, краткое содержание и общая оценка диссертационной работы. Диссертационная работа оформлена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 139 страницах машинописного текста, содержит 18 рисунков и 4 таблицы. Список литературы включает в себя 362 наименования.

Все экспериментальные и биоинформатические исследования выполнены лично автором или при его непосредственном участии, их достоверность не вызывает сомнений.

Во введении раскрыта актуальность темы исследования, её новизна, теоретическая и научно-практическая значимость, определены цели и задачи диссертационного исследования.

Обзор литературы начинается с классификации SNPs на основе их функциональной роли. Далее автором описываются широкомасштабные методы, применяемые для функциональной интерпретации SNPs, выявленных по результатам GWAS. Следующий раздел обзора литературы посвящен подробному описанию широкомасштабного подхода для целенаправленного поиска регуляторных SNPs, основанного на анализе аллель-специфических событий в эпигеномных и/или транскриптомных данных, его использованию в функциональной интерпретации данных GWAS. Отдельные главы посвящены описанию механизмов развития сахарного диабета типа 2, а также ряда известных на настоящий момент SNPs, ассоциированных с этим заболеванием. Также описываются предполагаемые механизмы регуляции глюконеогенеза в печени противодиабетическим препаратом метформином и излагаются результаты ген-кандидатного анализа и GWAS по поиску SNPs, связанных с индивидуальным ответом на метформин. В заключении по обзору литературы подчеркивается

актуальность работы и обосновывается цель исследования. В целом, обзор выстроен последовательно и логично, и свидетельствует о хорошем знании автором литературы по изучаемой проблеме.

В главе «Материалы и методы» приводятся сведения об исследуемой выборке людей, методиках выделения мононуклеарных клеток из периферической крови и проведения ChIP-seq и RNA-seq экспериментов, описывается биоинформатический алгоритм для поиска и дальнейшего анализа rSNPs. Используемые методы современны, адекватны поставленным задачам, описаны достаточно полно и обстоятельно.

Глава «Результаты» начинается с краткого изложения основных этапов экспериментально-биоинформатического подхода к поиску rSNPs, связанных с аллель-специфическими событиями в самостоятельно полученных данных ChIP-seq и RNA-seq (которые, как было показано автором, соответствуют рекомендуемым стандартам качества), и дальнейшего анализа сформированной панели rSNPs.

Анализ представленности rSNPs из сформированной панели в зависимости от частот их минорных аллелей (MAF) показал, что данная панель в основном состоит из распространенных вариантов (88.5%) с $MAF > 5\%$, тогда как на долю редких с $MAF < 5\%$ приходится всего 11.5%. Оценка величины асимметрии между референсными и альтернативными аллелями (аллельный эффект) rSNPs показала более высокий аллельный эффект в группе редких rSNPs чем у распространенных, что согласуется с ранее полученными результатами и гипотезой, согласно которой редкие варианты имеют более выраженный функциональный эффект и вносят больший вклад в риск развития заболеваний по сравнению с распространенными.

По результатам дальнейшей характеристики панели rSNPs автором было установлено, что 38.4% от всех rSNPs в представленной панели связано с различными фенотипическими признаками по данным каталога GWAS, а 66.7% - с изменением экспрессии генов по данным консорциума GTEx. Таким образом, полученные результаты раскрывают молекулярный смысл значительной группы SNPs из каталога GWAS, указывая на их регуляторную функцию, а также являются независимым подтверждением регуляторной роли значительной группы eQTLs из каталога GTEx.

В результате применения панели rSNPs к независимым транскриптомным данным по дифференциально экспрессирующимся генам (ДЭГ) между группой лиц

с диагнозом сахарного диабета второго типа (СД2) с осложнением в виде ретинопатии и здоровыми лицами было найдено 3810 rSNPs в промоторных районах 1284 ДЭГ. Биоинформатический анализ этих ДЭГ с использованием современных инструментов (STRING, CytoNCA, MCODE, clusterProfiler, pROC) позволил выделить широкую группу rSNPs, вовлеченных в патогенез СД2 с диабетической ретинопатией. В нее входят rSNPs, расположенные в промоторных районах генов, участвующих в процессах иммунного ответа, транспорта глюкозы внутрь инсулинзависимых клеток, образования глюкозы и гликогена, передачи инсулинового сигнала и т.д. Такие rSNPs представляют большой интерес для дальнейшего изучения их функциональной роли в процессах развития СД2 и его осложнений. Применение панели rSNPs к независимым транскриптомным данным по дифференциально экспрессирующимся генам между группами лиц с диагнозом сахарного диабета второго типа, отвечающими и не отвечающими на лечение метформином после трехмесячного курса лечения, позволило выявить 367 rSNPs в промоторных районах 131 ДЭГ. Значительную часть из этого списка rSNPs (n=50) составляют однонуклеотидные замены в промоторных районах генов, кодирующих транскрипционные факторы и другие регуляторные белки. Из них, 23 rSNPs располагаются в промоторных районах генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства цинковых пальцев, чьи функции еще практически не изучены. Кроме того, автором были выделены rSNPs, вовлеченные в известные механизмы действия метформина. Таким образом, данная работа добавляет новую информацию о фармакогенетических факторах, влияющих на индивидуальный ответ на метформин при сахарном диабете второго типа.

Все полученные результаты обоснованы и достоверны, резюмированы в «Заключении». **Выводы** обоснованы, соответствуют поставленным задачам и в полной мере отражают результат диссертационной работы.

Автореферат построен по стандартной схеме и полностью отражает содержание диссертации.

Публикации по теме диссертации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, результаты также представлялись на одной международной конференции.

Вопросы и замечания.

1. Почему при выявлении rSNPs из сформированной панели, связанных с признаками и экспрессией генов, автор не ограничился пересечением rSNPs с

вариантами из каталогов GWAS и GTEx, а расширил область поиска до ± 1000 п.о. от этих вариантов?

2. Было бы интересно узнать, имеются ли среди группы rSNPs, связанных с сахарным диабетом 2-го типа по данным GWAS, варианты из списка 3810 rSNPs, полученных по результатам применения панели rSNPs к данным по дифференциально экспрессирующимся генам между добровольцами с диабетом 2-го типа с осложнением в виде ретинопатии и здоровыми лицами? В каких генах располагаются эти rSNPs, и имеется ли информация об участии этих генов в патогенезе диабета?

3. В работе присутствуют несущественные отклонения от принятых стандартов в оформлении таблиц и некоторых рисунков. Например, при переносе таблицы на следующую страницу по существующим правилам необходимо еще раз повторить её полное название и название колонок (таблицы № 2, 3, 4). Также у рисунков № 7, 9 и 15 подписи целиком перенесены на следующую страницу.

Данные замечания не снижают научной и практической ценности выполненной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Дамарова Игоря Сергеевича «Полногеномное выявление регуляторных SNPs человека на основе получения и анализа комплекса данных ChIP-seq и RNA-seq», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки) – является законченным научно-квалификационным исследованием. Полученные результаты имеют важное значение для развития научных знаний в области генетики. По актуальности выбранной темы, научной новизне, достоверности основных положений, представленных результатов и сделанных на их основе выводов диссертационная работа отвечает требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г. (с последующими редакциями), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Дамаров Игорь Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки).

Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Дамарова Игоря Сергеевича рассмотрен и одобрен на заседании Ученого совета Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»
11.09. 2025 года, протокол № 3_____.

Данные об организации

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», тел.: +7 (800) 222 60 86, e-mail: 2749494@frcftm.ru, официальный сайт: <https://frcftm.ru/>

Адрес: 630060, г. Новосибирск, улица Тимакова, 2.

Отзыв составлен:

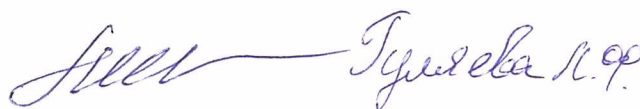
профессором, доктором биологических наук,
руководителем лаборатории

молекулярных механизмов канцерогенеза,
главным научным сотрудником ФИЦ ФТМ

Гуляевой Людмилой Федоровной

630060, г. Новосибирск, улица Тимакова, 2

тел.: +7 334-8840, e-mail: lfguliaeva@frcftm.ru, lfgulyaeva@gmail.com.



Личную подпись Л.Ф. Гуляевой заверяю
С.В. Венедиктова отдела кадров ФИЦ ФТМ
"30 сентября 2025" г. подпись С.В. Венедиктова

