

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ

**ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ГЕНА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУ**

(ИБГ РАН)

Вавилова ул., 34/5, Москва, 119334

Тел.: 8-499-135-60-89, 8-499-135-98-84 Факс: 8-499-135-41-05

E-mail: info@genebiology.ru

ИНН 7736020369 КПП 773601001 ОГРН 1027739618037 ОКПО 00244660

«Утверждаю»



Директор ИБГ РАН

Академик РАН П.Г. Георгиев

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

ведущей организации на диссертационную работу Филипповой Ирины Николаевны
«ПОПУЛЯЦИОННОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОМНЫХ КЛАСТЕРОВ ГЛУТАТИОН-S
ТРАНСФЕРАЗНЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА», представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология»

Диссертация Филипповой Ирины Николаевны выполнена в актуальном направлении современной молекулярной биологии, и посвящена изучению особенностей структуры вариабельности генома человека. Предмет исследования работы – два участка генома, включающих в себя кластеры генов глутатион-S-трансфераз, относящихся к классам мю (М) и альфа (А). Глутатион-S-трансферазы (GSTs) занимают одно из ключевых мест в системе защиты организма от токсического воздействия различных соединений. Их объединяет способность катализировать реакции присоединения глутатиона к электрофильным центрам этих соединений. Однако специфичность данных реакций довольно низка и одни и те же реакции способны катализироваться сразу несколькими ферментами. Это затрудняет оценку вклада полиморфизма отдельных генов GSTs, как в риск развития заболеваний, так и реакций организма на те или иные лекарственные препараты, и требует понимания особенностей их взаимоотношений. В этом отношении

автором диссертации осуществлена успешная попытка анализа популяционной variability полиморфизма геномных регионов двух самых представительных классов генов GSTs: *GSTA* и *GSTM*. На основании исследования аллельного и гаплотипического разнообразия каждого из регионов установлена близость параметров полиморфизма и сходство эволюционных траекторий обоих участков генома. А применительно к широко встречающемуся делеционному полиморфизму гена *GSTM1* продемонстрирована зависимость частоты возникновения делеции этого гена от определенных вариантов его геномного окружения.

Структура диссертации

Диссертационная работа Филипповой И.Н. изложена на 101 странице машинописного текста и построена по традиционному плану, то есть состоит из введения, обзора литературных источников, а также разделов «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение» и «Выводы». Работа проиллюстрирована 11 рисунками и 14 таблицами. Список цитированной литературы включает 181 источник. В работе практически нет опечаток, текст диссертации тщательно выверен. Стил изложения четкий и ясный с минимальными стилевыми погрешностями.

Теоретическая и практическая значимость

В соответствии с направлением проведенных исследований в литературном обзоре автором детально и со знанием дела рассматриваются имеющиеся литературные данные о строении и функциях глутатион-S-трансфераз, об их месте в общей системе метаболических путей организма. Особое место уделяется описанию полиморфизма генов, его значения для функциональной активности ферментов, а также его связи с риском развития заболеваний и особенностями различиями в реакциях пациентов на те или иные лекарственные воздействия. Органичной частью обзора смотрится глава, посвященная рассмотрению концепции неравновесия по сцеплению и связанных с ним представлений о блочной структуре генома и гаплотипах. Она раскрывает преимущества анализа гаплотипов над отдельными полиморфизмами, подготавливая читателя к восприятию материала, полученного самим автором и излагаемого им в главах «Результаты» и «Обсуждение».

В главе «Материалы и методы исследования» представлены методы и подходы, использованные в работе, начиная от описания принципов формирования популяционных выборок до изложения методов анализа данных, полученных с использованием ДНК-микрочипов. Все они описаны с детализацией, достаточной для независимого воспроизведения полученных в работе результатов. В выборе и описании методов анализа

и обработки данных виден профессионализм автора, отражающий свободу его владения материалом.

Результаты работы отчетливо делятся на две части. Первая ее половина посвящена изучению паттернов популяционной изменчивости в кластерах генов *GSTA* и *GSTM*. В случае каждого из кластеров анализ строится по единой схеме, включающей последовательное сравнение аллельных и гаплотипических частот однонуклеотидных полиморфных локусов в трех популяциях русского населения с таковыми в популяциях проекта ХарМар: европейской по происхождению популяции CEU из американского штата Юта, популяций китайцев, японцев и нигерийцев. Анализ частот встречаемости аллелей отдельных локусов не выявил различий между европейскими популяциями, к которым относятся русские популяции и популяция CEU. В то же время он показал существенные отличия в распределении частот минорных аллелей между европейскими популяциями и популяциями из Китая, Японии и Нигерии. Оценка уровня межпопуляционных вариаций частот с использованием индексов фиксации F_{ST} с последующей их визуализацией дала очень похожие для каждой из групп маркеров картины взаиморасположения популяций: в обоих случаях взятые в исследование популяции формировали три отдельных кластера, в состав которых вошли популяции близкие по происхождению. Оценка изменчивости, основанная на сравнительном анализе частот гаплотипов, также показала отсутствие выраженных различий при сравнении русских популяций между собой и в парах русские популяции – популяция CEU, и их наличие в остальных парах сравнения. Однако, если в случае сравнения русских (европейских) популяций с популяциями китайцев и японцев достоверные различия между популяциями были выявлены по всем блокам в обоих кластерах генов, то в случаях их сравнений с нигерийцами имело место сходство распределения гаплотипов по некоторым блокам обоих кластеров. Совокупность полученных данных позволила автору сделать фундаментальный вывод о сходстве эволюционных траекторий этих двух расположенных на разных хромосомах участках генома.

Вторая часть работы демонстрирует достижения автора, полученные при исследовании делеционного полиморфизма гена *GSTM1* в контексте выявленных паттернов полиморфизма кластера *GSTM*. Насущность и актуальность этого анализа обусловлена широкой встречаемостью делеции в популяциях мира и ассоциируемыми с ней рисками развития целого ряда патологических состояний. Для выяснения вопроса о том, влияет ли геномное окружение на наличие (отсутствие) делеции, автором был проведен цикл сравнений частот встречаемости отдельных гаплотипов в различных по структуре и

численности группах индивидуумов. Проведенный анализ распределений гаплотипов по всем гапблокам во всех возможных парах сравнения продемонстрировал наличие значительных различий в частотах встречаемости гаплотипов между группой гомозигот по делеции и двумя остальными группами индивидуумов. Обнаружение этих различий позволило автору обоснованно сформулировать предположение о предпочтительности возникновения делеции в определенных вариантах геномного окружения. Выявленная взаимосвязь имеет не только фундаментальное (теоретическое) значение. Практическая значимость данной находки может быть связана с рекомендацией учета (необходимостью принятия во внимание) особенностей гаплотипической структуры генов кластера *GSTM* при проведении ассоциативных исследований с использованием делеционного полиморфизма гена *GSTM1*.

Научная новизна

В результате выполнения диссертационной работы И.Н. Филипповой впервые осуществлен комплексный анализ структуры популяционного полиморфизма двух участков генома человека, включающих кластеры генов глутатион-S-трансфераз, относящихся к классам мю (М) и альфа (А). Продemonстрирована близость его характеристик в обоих исследованных регионах. Впервые продемонстрирована корреляция между делецией гена *GSTM1* и распределением частот гаплотипов в кластере генов *GSTM*, указывающая на возможность предпочтительного возникновения делеции в определённых вариантах геномного окружения.

Замечания к работе

В описании статистических методов анализа отсутствуют указания на причины выбора в качестве пороговой для объединения отдельных полиморфизмов в гапблоки величины показателя неравновесия по сцеплению D' равной 0.7. При изложении результатов сравнительного анализа частот встречаемости гаплотипов в парах популяций автор говорит о достоверных различиях между европейскими популяциями и популяциями китайцев и японцев. В то же время в табличных данных эти показатели приводятся лишь для русских популяций (отсутствуют для популяции CEU).

Высказанные замечания носят частный характер и не умаляют общей положительной оценки диссертационной работы.

Заключение

Подводя итог всему вышесказанному, можно заключить, что диссертационная работа И.Н. Филипповой является оригинальным экспериментальным исследованием на

актуальную тему, выполненным на высоком методическом и теоретическом уровне, и имеющем несомненное фундаментальное и прикладное значение. Полученные в рамках работы результаты достаточно полно представлены в вышедших публикациях. Автореферат хорошо отражает содержание диссертации.

Считаю, что диссертационная работа по актуальности, объему выполненных исследований, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полностью отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденных постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор, И.Н. Филиппова, безусловно, заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на заседании лаборатории нейрогенетики и генетики развития Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук «13» мая 2015 г.

Павлова Галина Валериевна
Заведующая лабораторией нейрогенетики
и генетики развития ИБГ РАН
доктор биологических наук

Адрес: 119334, город Москва, ул. Вавилова, д. 34/5
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии гена Российской академии наук
тел.: 8 (499) 135-25-41
e-mail: lkorochkin@mail.ru

Телефон: 7(499) 135-98-84, 7(499) 135-60-89
Факс: 7(499) 135-41-05; E-mail: info@genebiology.ru