



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

УТВЕРЖДАЮ
ВРИО Директора ФИЦ
биотехнологии РАН,
к.х.н. Садыхов Э.Г.

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33,
стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-
27-32

www.fbras.ru, info@fbras.ru

02.10.2019

№ 85-01-19/829

На № 92-04-2-20/24

ОТ 30.07.2019



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Чекалина Евгения Виталиевича "Влияние эпигенетических факторов на развитие иммуновоспалительных заболеваний кожи", представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 — генетика и 03.01.09 — математическая биология, биоинформатика.

Актуальность. Диссертация Чекалина Евгения Виталиевича посвящена изучению регуляторных механизмов, вовлеченных в развитие псориаза. Псориаз — хроническое неинфекционное заболевание, поражающее, в основном, кожные покровы. В настоящее время предполагается аутоиммунная природа этого заболевания, однако механизмы его возникновения и развития еще не изучены до конца. Псориазом страдают 2—4 % от общей численности населения. Заболевание ухудшает качество жизни пациентов в той же степени, как и другие серьезные хронические заболевания.

В работе Чекалина Е.В. проведен поиск связей между уровнями метилирования цитозинов в ДНК человека, активностью транскрипционных факторов и уровнем экспрессии соответствующих генов в коже, поражённой псориазом. Дополнительно, в работе также сделан мета-анализ дифференциального метилирования ДНК и экспрессии генов между поражённой псориазом и здоровой кожи с использованием публично доступных экспериментальных данных. Также в работе предложен метод восстановления

корреляции между экспрессией генов и уровнем метилирования ДНК для случаев, когда образцы получены от разных пациентов.

Тема работы весьма актуальна в первую очередь в связи с распространенностью заболевания и малой эффективностью имеющихся терапевтических подходов. Понимание регуляторных механизмов развития псориаза может в будущем привести к созданию более эффективных методов лечения. На данный момент в базах данных, в том числе NCBI, содержится очень большое количество оригинальных экспериментов по анализу уровня метилирования ДНК и экспрессии генов кожи. При этом, статьи, в которых анализируют результаты этих экспериментов, как правило, не прибегают к мета-анализу, тогда как он может дать более полную картину вследствие большего объема выборки. По той же причине актуален поиск ассоциаций между различными результатами OMICs-ных экспериментов, происходящих из разных образцов. В диссертации Чекалина Евгения Виталиевича изложен ряд новых методических приёмов, позволяющий провести поиск корреляции между уровнями экспрессии генов и уровнями метилирования ДНК из разных образцов. Таким образом, работа Чекалина Е.В. представляется крайне актуальной.

Структура работы. Изложение следует классической схеме с некоторыми модификациями. Текст диссертации состоит из четырёх глав: введения, обзора литературы, и глав, содержащих описание методов и результатов. Введение содержит постановку задачи и описывает актуальность и новизну работы. Обзор литературы содержит необходимые биологические сведения о роли метилирования ДНК, дифференциальной экспрессии генов, в частности транскрипционных факторов, на иммунопатогенез псориаза. В том числе, подробно описаны результаты работ, полученные с помощью современных методов на основе секвенирования и микрочипов. В третьей главе содержится описание используемых данных (как полученных в рамках данного исследования, так и публичных), а также методов обработки этих данных. В четвертой главе проведен анализ полногеномных профилей экспрессии и метилирования ДНК при псориазе в сравнении со здоровыми образцами. В ней также описана разработанная автором методика поиска локусов ДНК с достоверной корреляцией между уровнем экспрессии и уровнем метилирования. В данной главе также описываются результаты поиска транскрипционных регуляторов, участвующих в регуляции экспрессии генов-мишеней при псориазе. Диссертацию завершают выводы и список литературы.

Научная новизна. Автором впервые был проведён мета-анализ всех находящихся в открытом доступе RNA-Seq экспериментов по исследованию сравнительной экспрессии генов в образцах здоровой кожи, и кожи пораженной псориазом. Анализ позволил выявить

список из 19 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ). Впервые проведен мета-анализ всех экспериментов профилирования ДНК в образцах здоровой кожи и пораженной псориазом, и выявлен список генов с дифференциально метилированными участками (ДМТ). Впервые продемонстрирована ассоциация дифференциального метилирования ДНК и дифференциальной экспрессии генов кластера S100A в образцах здоровой кожи и пораженной псориазом. Предказаны ключевые транскрипционные факторы, участвующие в патологии псориаза, а также выдвинуто предположение о связи метилирования ДНК и вклада активности транскрипционных факторов в регуляцию экспрессии конкретных генов в патогенезе псориаза. Впервые показана роль эпигенетических изменений в конкретной ткани при изменении транскрипционной активности, связанной с патологическими изменениями, что имеет большое значение для разработки модели заболевания. Идентифицированы ДЭГ и ДМТ могут быть рассмотрены как мишени для разработки новых подходов к созданию высокоэффективных терапевтических препаратов для лечения псориаза, а также при оценке ответа больных на тот или иной тип лечения.

Научная значимость результатов и их практическое значение. Авторам впервые проведен мета-анализ всех существующих результатов экспериментов по анализу полногеномного транскриптома и метилома, их взаимная связь с помощью принципа транзитивности, а также анализ активных транскрипционных факторов с помощью транзитивности. Открыты новые ассоциации между дифференциальным метилированием ДНК, активностью транскрипционных факторов и уровнем экспрессии генов. С точки зрения фундаментальной науки, открытые диссертантом закономерности могут послужить отправной точкой для глобального исследования связи между экспрессией генов, метилированием ДНК и активностью транскрипционных факторов, а также использованию ДНК для выявления активных ТФ и использования принципа транзитивности для поиска корреляций на выборках образцов, имеющих разное происхождение. С научно-практической точки зрения, открытые автором закономерности могут быть использованы для поиска генов в патогенезе различных заболеваний, в регуляции транскрипции которых роль играет одновременно и метилирование ДНК и активность транскрипционных факторов.

Замечания к работе. Несмотря на высокое качество работы, в ней есть ряд недостатков. В первую очередь, вопрос вызывает использование индекса взаимной информации в качестве функции максимизации, так как для получения энтропии вектора маркерного подграфа необходимо линеаризовать экспрессию подграфа, из-за чего

теряется информация. Возможно, использование силуэт-кластеризации больше подходит в качестве функции максимизации. Также для полноты картины необходимо сравнение результатов используемых подходов с результатами классических подходов: так, транскрипционные факторы, полученные с помощью графов генных сетей, следует сравнить с результатами обогащения TF ДЭГ мишенями с помощью гипергеометрического распределения. Аналогичное замечание можно высказать и про транзитивность корреляции. Для полноты картины следует найти исследование, где анализировали экспрессию генов и метилирование ДНК из одного и того же образца и посмотреть корреляцию напрямую и с помощью транзитивности с вектором фенотипов. В работе также замечено большое количество опечаток. Например, вместо маркировки генома GRCh38 он маркирован hg38.

Рекомендации по практическому использованию. Результаты диссертации могут использоваться при проведении научных исследований в области медицинской и генетической биоинформатики. Описанные в диссертации методы и статистические закономерности могут быть использованы в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Федеральном исследовательской центре биотехнологии РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт молекулярной генетики РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт математических проблем биологии РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биологии гена РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Высшей школе экономике, Сколковском технологическом университете, Новосибирском государственном университете и других учебных и научно-исследовательских организациях.

Заключение. Диссертационная работа Чекалина Евгения Виталиевича «Влияние эпигенетических факторов на развитие иммуновоспалительных заболеваний кожи» является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена задача анализа изменений экспрессии генов и метилирования ДНК при псориазе у человека, а также поиска ключевых факторов транскрипции, ответственных за эти изменения. Решение этой задачи имеет большое значение для задачи понимания регуляторных механизмов развития псориаза, а также задач компьютерной геномики (пункт 3 паспорта специальности 03.01.09). По своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Чекалина Е. В. соответствует

