

**Заключение диссертационного совета 24.1.172.01, созданного на базе
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени
В.Н. Ореховича», по диссертации на соискание ученой степени
кандидата наук**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 13 февраля 2025 г. № 3

О присуждении Арзуманян Виктории Арменовне, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярный профиль опухолевой клеточной линии HerG2» по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика принята к защите 28 ноября 2024, протокол № 9, диссертационным советом 24.1.172.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», 119121, Россия, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, созданного Приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г. с внесением изменений Приказом Минобрнауки России № № 561/нк от 03 июня 2021 г. и Приказом Минобрнауки России № 1959/нк от 12 октября 2023 г.

Соискатель Арзуманян Виктория Арменовна, 1998 года рождения.

В 2020 году соискатель окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. В 2024 году окончила очную аспирантуру по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки при ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». Работает младшим научным сотрудником в лаборатории интерактомики протеоформ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Диссертация выполнена в лаборатории интерактомики протеоформ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Поверенная Екатерина Владимировна, заведующая лабораторией интерактомики протеоформ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича».

Официальные оппоненты:

Колпаков Федор Анатольевич, доктор биологических наук, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, руководитель направления «Вычислительная биология»;

Храмеева Екатерина Евгеньевна, доктор биологических наук, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», доцент;

ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки (ФГБУН) Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, гор. Москва, в своём положительном заключении, подписанном доктором физико-математических наук, членом-корреспондентом РАН, заведующим лабораторией системной биологии и вычислительной генетики Макеевым Всеволодом Юрьевичем, поставила вопросы относительно происхождения вариаций копийности; наличия двух кластеров образцов, включающих в себя как HerG2, так и Nuh7, и наблюдаемой большой разницы для клеток НАСАТ на уровне экспрессии белков и транскриптов (панели 1 и 2) на рисунке 28.

Однако эти вопросы-замечания важны для дальнейшего исследования и не сказываются на высокой оценке уровня исследования.

Соискатель имеет 19 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 15 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 8.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Arzumanian V., Pyatnitskiy M., Poverennaya E. Comparative Transcriptomic Analysis of Three Common Liver Cell Lines // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol.24, №10. P.8791. Q1, IF: 5,6, K1, 1,12 усл. печ.л.

Целью данного исследования было проведение сравнительного транскриптомного анализа трёх широко используемых линий клеток печени (HepG2, Huh7 и Hep3B) на основе общедоступных данных РНК-секвенирования. В работе также рассмотрены данные о первичных гепатоцитах — клетках, выделенных непосредственно из ткани печени и считающихся золотым стандартом для изучения функций печени и её заболеваний. Соискатель выполнила поиск опубликованных транскриптомных данных, их анализ и статистическую обработку, а также участвовала в написании статьи.

2. Arzumanian V.A., Kurbatov I.Y., Ptitsyn K.G., Khmeleva S.A., Kurbatov L.K., Radko S.P., Poverennaya E.V. Identifying N6-Methyladenosine Sites in HepG2 Cell Lines Using Oxford Nanopore Technology // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol.24, №22. 16477. Q1, IF: 5,6, K1, 1,1 усл. печ.л.

В статье проанализированы модификации N6-метиладенозина (м6А) в линии клеток HepG2 с использованием технологии Oxford Nanopore и алгоритма m6Anet. Кроме того, были изучены взаимосвязи между транскриптомным, транслятомным и протеомным уровнями. Соискатель проводила анализ данных, статистическую обработку и участвовала в написании статьи.

3. Pyatnitskiy M.A., Arzumanian V.A., Radko S.P., Ptitsyn K.G., Vakhrushev I.V., Poverennaya E.V., Ponomarenko E.A. Oxford Nanopore MinION Direct RNA-Seq for Systems Biology // Biology (Basel). 2021. Vol.10, №11. P.1131. Q2, IF: 4,2, K1, 1,17 усл. печ.л.

В работе оценивали производительность технологии длинных ридов (Oxford Nanopore MinION) с точки зрения обнаруженных белок-кодирующих генов, и средней попарной корреляции между оценками активации путей. Соискатель анализировала транскриптомные данные, полученные как с использованием

технологии Oxford Nanopore, так и Illumina, а также принимала участие в написании статьи.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

официального оппонента Колпакова Федора Анатольевича, доктора биологических наук, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, руководитель направления «Вычислительная биология», в котором имеются замечания и вопросы. Отмечается, что в списке литературы во многих публикациях отсутствует год издания; нет заключения к обзору литературы; недостаточно полон раздел «Базы данных»; слишком кратко приведено описание методов в разделе «Анализ данных секвенирования нового поколения»; практически нет используемых запросов при поиске в базах данных, что необходимо в контексте воспроизводимости результатов исследования. Также в отзыве высказаны отдельные замечания и комментарии по тексту диссертации, есть вопросы относительно величины копийности НерG2 для ряда участков генома и доверительных интервалов для определения уровня экспрессии для разных транскриптов одного гена. Однако высказанные замечания, вопросы и комментарии не оказывают влияния на общую высокую оценку и не снижают значимость выполненной работы;

официального оппонента, доктора биологических наук Храмеевой Екатерины Евгеньевны, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», доцент, в котором есть ряд вопросов и замечаний. Так, в частности, спрашивается относительно биологической повторности при анализе кариотипа по цитогенетическим данным; корректности некоторых терминов; статистической значимости результатов разнообразия и пересечения генетических вариантов, обнаруженных в клеточной линии НерG2; причины усреднения данных при определении высоко- и низко-метилированных областей гена (стр.80). Вместе с тем отмечается, что работа

является завершённым научным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории протеомики надорганизменных систем ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» Антонца Кирилла Сергеевича высказан ряд замечаний. В частности, в работе не хватает обоснования выбора клеточной линии HepG2 как основной для проводимого исследования; в обсуждении нет сравнения полученных результатов по вариабельности клеточной линии HepG2 по уровню экспрессии генов и транскриптов с другими линиями; было бы интересно провести анализ изоформ и событий альтернативного сплайсинга в дополнение к секвенированию транскриптома с использованием длинных прочтений. Однако указанные замечания не уменьшают значимость проведенной работы.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории регуляции внутриклеточного протеолиза ФГБУН Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда Карпова Дмитрия Сергеевича существенных замечаний нет, а есть пожелание автору указывать использованное оборудование при описании омиксных исследований.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова Климович Полины Сергеевны есть некоторые замечания. Неясно, насколько стабильным является профиль экспрессии генов клеточной линии и насколько он меняется во времени в зависимости от клеточных циклов, времени хранения клеточной линии, свойств питательной среды и так далее. Сведения об этих факторах существенно дополнили бы диссертационную работу. Вне оценки влияния этих факторов становится неочевидным возможность исследования гетерогенности клеточных линий, полученных из разных

источников. Несмотря на перечисленные недостатки, работа представляет внушительный научный труд, основанный на большом количестве экспериментальных данных, полученных с использованием современных экспериментальных методов.

В положительном отзыве на автореферат кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории геномики НИИ трансляционной медицины ФГАОУ ВО Российского научно-исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова Коростина Дмитрия Олеговича отмечено излишнее внимание автора к техническому блоку работы, например, обсуждение низкого покрытия секвенирования в некоторых датасетах, превалирование статистических выкладок над биологическим осмыслением результатов. Но это замечание носит технический характер и не влияет на общую оценку работы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован тем, что доктор биологических наук Колпаков Федор Анатольевич - авторитетный ученый в области вычислительной молекулярной биологии, специализирующийся на построении сложных модульных моделей биологических систем; доктор биологических наук Храмеева Екатерина Евгеньевна – известный специалист в области эпигеномики и биоинформатики, исследующая регуляторные механизмы генома и их связь с клеточной спецификой;

ФГБНУ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН - один из ведущих научных центров, занимающийся фундаментальными и прикладными разработками в области генетики, молекулярной биологии и биоинформатики.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- впервые представлен интегративный молекулярный портрет опухолевой клеточной линии НерG2, охватывающий ключевые омикс-уровни, включая геном, эпигеном, транскриптом, эпитранскриптом и протеом;

- впервые выявлены уникальные геномные и эпигеномные характеристики клеточной линии HepG2 и сформулирована гипотеза об их связи с функциональностью экспрессирующихся генов;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что проведение комплексного анализа, объединяющего геномные, эпигеномные, транскриптомные и протеомные уровни, позволяет выявить ключевые элементы регуляции, которые могут быть задействованы в различных биологических процессах. Это создаёт предпосылки для повышения качества научных исследований и разработки более точных моделей для изучения заболеваний печени и поиска лекарственных мишеней. Предложенные подходы также могут быть адаптированы для изучения других клеточных линий, что расширяет возможности системной биологии и мультиомных исследований.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что создан молекулярный портрет клеточной линии HepG2, использование которого способствует повышению точности интерпретации данных, идентификации биомаркеров и улучшению воспроизводимости биомедицинских исследований. Разработанные молекулярные карты и выявленные стабильные гены могут быть использованы для идентификации новых биомаркеров, анализа тканеспецифичных регуляторных механизмов и оптимизации дизайна доклинических испытаний.

Оценка достоверности результатов исследования подтверждается тем, что диссертантом были использованы современные экспериментальные методы мультиомного анализа и общепризнанные биоинформатические алгоритмы, рекомендованные ведущими научными школами. Все выводы основаны на фактическом материале, подтвержденном данными из курируемых баз, включая Ensembl, NCBI и UniProt, а также верификацией результатов на уровне репликации и перекрестной проверки. Апробация

работы проведена на научных конференциях, где основные положения прошли экспертное обсуждение и получили положительные отзывы.

Личный вклад соискателя состоит в проведении комплексного мультиомного анализа клеточной линии НерG2, включая обработку, интерпретацию и визуализацию данных на геномном, эпигеномном, транскриптомном, и протеомном уровнях, в том числе построении молекулярных карт для изучения стабильности и изменчивости ключевых характеристик клеточной линии.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

На заседании 13 февраля 2025 г. диссертационный совет принял решение присудить Арзуманян Виктории Арменовне учёную степень кандидата биологических наук за решение актуальной биоинформатической задачи по агрегации и глубокому анализу обширного массива собственных и общедоступных данных, отражающему регуляторные процессы в клетках НерG2 на мультиомных уровнях, что способствует повышению качества интерпретации результатов, основанных на исследовании данной клеточной линии, в широком диапазоне областей – от токсикологии до терапии онкозаболеваний.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 19, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Зам. председателя Диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент РАН

 Поройков В.В.

Ученый секретарь Диссертационного совета
кандидат химических наук

 Карпова Е.А.

13 февраля 2025 года

