



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Decoding telomere gene variation through saturation genome editing: from functional genomics to clinical interpretation

Obolenski, S.

Citation

Obolenski, S. (2026, September 24). *Decoding telomere gene variation through saturation genome editing: from functional genomics to clinical interpretation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4310110>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4310110>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Резюме на русском языке

Теломеры и связанные с ними белковые комплексы играют ключевую роль в поддержании целостности хромосом. Варианты, нарушающие функционирование этой системы, могут приводить к предрасположенности к онкологическим заболеваниям, а также к расстройствам теломерной биологии. В клинической практике гены *POT1* и *TINF2* всё чаще включаются в панели для диагностики наследственной онкологической предрасположенности. Однако для значительной части выявляемых вариантов отсутствуют достаточные функциональные и эпидемиологические данные, в результате чего они классифицируются как варианты неопределённой клинической значимости (variants of uncertain significance; VUS). Это существенно ограничивает клиническую ценность генетического тестирования, затрудняя интерпретацию результатов, оценку индивидуального риска и принятие обоснованных решений по наблюдению и профилактике для пациентов и их семей.

В этой диссертации изучается, можно ли использовать метод saturation genome editing (SGE) для того, чтобы лучше понять значение генетических изменений в генах, связанных с теломерами. Также рассматривается, можно ли использовать такие данные в клинической практике, например при оценке того, является ли найденный генетический вариант опасным или, скорее всего, безвредным. SGE — это метод редактирования генома, который позволяет одновременно изучать очень большое количество изменений в одном гене. Эти изменения вводятся прямо в естественное место гена в геноме клетки. Затем измеряется, как каждое из этих изменений влияет на работу клетки или гена. В этой работе в качестве примеров изучались два гена: *POT1* и *TINF2*. Для них были созданы подробные карты, показывающие, какие генетические изменения могут нарушать функцию гена, а какие имеют слабый или незаметный эффект. Затем эти результаты сравнивались с данными о теломерах, клиническими наблюдениями у пациентов и данными о риске развития рака в больших группах людей.

Во **второй главе** представлен обзор современных подходов функциональной геномики к интерпретации генетических вариантов, с особым вниманием к CRISPR-основанным эндогенным мультиплексным анализам эффектов вариантов (MAVE), а также обоснован выбор SGE в качестве основного экспериментального инструмента. В **третьей главе** описана разработка и оптимизация рабочего процесса SGE в

гаплоидной клеточной системе HAP1-A5, включая дизайн библиотек вариантов, стратегии редактирования генома и количественные фитнес-основанные показатели, обеспечивающие воспроизводимую функциональную оценку большого числа кодирующих вариантов.

В **четвёртой главе** данный подход применяется к гену *POT1* — ключевому компоненту комплекса shelterin, играющему установленную роль в наследственной предрасположенности к меланоме и другим видам рака. Было проанализировано около 97% всех возможных кодирующих однонуклеотидных вариантов, что позволило показать, что варианты *POT1* образуют континуум функциональных эффектов, а не бинарное разделение на патогенные и доброкачественные. Варианты с выраженным функциональным нарушением преимущественно локализируются в ДНК-связывающих OB-fold-доменах. Функциональные оценки, полученные с помощью SGE, были валидированы с использованием измерений длины теломер и показателей ответа на повреждение ДНК и сопоставлены с онкологическими диагнозами в базе данных UK Biobank и клинически охарактеризованных когортах пациентов, что подтверждает связь между степенью функционального нарушения *POT1*, теломерной дисфункцией и риском развития рака.

В **пятой главе** метод SGE расширяется на ген *TINF2*, с фокусом на экзоны, кодирующие ключевые домены взаимодействия комплекса shelterin, в которых сосредоточено большинство известных онкологически ассоциированных вариантов. Полученная функциональная карта подтверждает, что как ранее описанные патогенные варианты, так и новые варианты, выявленные в рамках данной работы, приводят к значимому снижению клеточной жизнеспособности. Структурный анализ показывает, что нарушение поверхностей взаимодействия с белками TRF1, TRF2 и TPP1 является особенно неблагоприятным. Интеграция функциональных данных с клинической информацией и анализом родословных указывает на расширенный спектр опухолей, ассоциированных с *TINF2*, включая меланому и немедуллярный рак щитовидной железы как основные злокачественные новообразования, а также повторяющиеся случаи более редких опухолей, таких как саркомы, почечно-клеточный рак и различные типы опухолей головного мозга.

Шестая и седьмая главы посвящены оценке клинической применимости данных SGE. В популяционном исследовании «случай–контроль» по меланоме функциональная классификация позволила отличить редкие варианты *POT1*, нарушающие связывание

с теломерной ДНК, от многочисленных редких миссенс-вариантов без измеримого функционального эффекта. Это показало, что патогенные варианты *POT1* встречаются редко в общей популяции, но чаще обнаруживаются у пациентов с меланомой. В шведских семьях с наследственной предрасположенностью к меланоме функциональные оценки SGE использовались в качестве дополнительного доказательства при интерпретации вариантов *POT1*, выявленных в ходе стандартного клинического генетического тестирования, особенно в сложных родословных, характеризующихся ранним началом заболевания, множественными первичными опухолями и наличием фенокопий.

В **восьмой главе** полученные результаты рассматриваются в более широком контексте клинической интерпретации генетических вариантов и наследственной онкологической генетики. Показано, каким образом калиброванные данные SGE могут быть интегрированы в классификационную систему ACMG/AMP, что способствует снижению доли VUS и улучшению интерпретации вариантов на уровне популяций. Также обсуждаются ограничения используемой экспериментальной модели и обозначаются направления дальнейших исследований, включая анализ некодирующих вариантов, расширение спектра фенотипических показателей и интеграцию предиктивных подходов.

В целом эта диссертация показывает, что метод SGE может помочь лучше понять, какие изменения в генах действительно важны для здоровья. В работе изучались два гена, *POT1* и *TINF2*. Эти гены связаны с теломерами и могут играть роль в наследственном риске развития рака. Для них были созданы подробные карты, которые показывают, какие генетические изменения могут быть вредными, а какие, скорее всего, нет. Эти данные могут помочь врачам лучше понимать результаты генетического тестирования, особенно когда у пациента найден редкий вариант, значение которого пока неясно. Таким образом, работа показывает, что такие экспериментальные данные могут быть полезны для более точной оценки наследственного риска рака.