

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Леушкина Евгения Владимировича на тему: «Анализ эволюции инсерций и делеций в последовательности ДНК, проводимый на основе сравнения полных геномов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 - математическая биология, биоинформатика.

Наиболее характерной особенностью развития науки о живом за последнее десятилетие стало появление и расцвет новых отраслей и направлений исследований, включая, в первую очередь, тех, которые выявляют закономерности функционирования и эволюции геномов как отдельных видов, так и целых групп живых организмов. Достигнутые успехи эволюционной геномики – одной из таких новых отраслей – равно предопределены двумя главными факторами: широким внедрением новейших технологий массивированного секвенирования ДНК и использованием эффективных методов биоинформатического анализа громадных массивов данных нуклеотидных последовательностей целых геномов или их фрагментов. В настоящее время основные усилия исследователей в области биоинформатики сосредоточены на создании производительных систем либо обработки первичных данных массивированного секвенирования, либо комплексного сравнительного анализа массивов нуклеотидных последовательностей на полногеномном уровне. При этом, решение второй задачи настоятельно требует дальнейшего расширения спектра используемых молекулярно-генетических маркеров и существенного углубления проводимого анализа. В связи с вышеизложенным, тематика диссертации Е.В. Леушкина, посвященной полногеномной идентификации видоспецифических инсерций и делеций в структуре ДНК и комплексному изучению роли инсерционно-делеционных изменений в эволюции генома *Drosophila melanogaster*, безусловно является актуальной, а сама диссертационная работа направлена на решение одной из приоритетных задач современной эволюционной геномики.

Представленная к защите диссертационная работа Е.В. Леушкина суммирует и обобщает последние результаты исследований автора, опубликованные в виде трех оригинальных статей в международных рейтинговых научных журналах. Диссертационная работа изложена на 87 страницах, проиллюстрирована 1 таблицей и 28 рисунками, содержит список 90 цитированных источников, включающих наиболее значительные научные обзоры и оригинальные статьи по теме диссертации. Рукопись диссертации составлена в полном соответствии с действующими требованиями Минобрнауки России и включает расширенное введение; раздел «материалы и методы»; 3 отдельные главы, представляющие результаты собственных исследований и их краткое обсуждения; выводы; благодарности; списки и авторских публикаций по теме диссертации и цитированной литературы.

Раздел **введение** начинается с краткого обоснования выбора направления и темы исследования. Пять последующих частей развернутого введения представляют, по своей сути,

обзор литературы, в котором автор анализирует содержание около половины цитируемых в диссертации источников. В первой из этих частей, озаглавленной «Инсерции и делеции» кратко охарактеризован основной объект авторских исследований, изложены современные представления о молекулярных механизмах возникновения инсерций и делеций в геномах высших эукариот, о природе и темпах инсерционно-делеционного мутагенеза, рассмотрены достоинства и ограничения использования инсерционно-делеционных маркеров при сравнительном и сравнительно-эволюционном анализе геномов различных групп животных организмов. В последующих частях автором достаточно подробно проанализированы наиболее современные биоинформатические подходы к выявлению и характеристике геномных последствий разных типов естественного отбора, отбора в сцепленных локусах, геной конверсии, а также изменений адаптивного ландшафта генома отдельной популяции организмов. Логично построенный обзор перспективных направлений и методов исследования инсерционно-делеционной вариабельности генома хорошо вырисовывает актуальность и научную значимость результатов диссертационной работы. Вместе с тем, вводный раздел рукописи не содержит обоснованного построения общей стратегии собственных исследований автора. Столь же уместным было бы завершить вводный раздел диссертации, либо заключительную часть обзора литературы, формулировкой цели и задач, как это сделано в автореферате.

В разделе «**Материалы и Методы**» автор представляет все необходимые ссылки на международные базы данных геномных последовательностей и дает исчерпывающий обзор использованных способов первичной обработки баз данных. Основным объектом исследования выбраны относительно короткие (от 1 до 60 нуклеотидов) инсерции/делеции, идентификацию которых автор проводил в нуклеотидных последовательностях геномной ДНК 6 видов рода *Drosophila* и/или 162 инбредных линий (отдельных популяций) *D. melanogaster*. Наряду с четким определением объекта исследования в данном разделе достаточно подробно описан впечатляюще широкий круг биоинформатических методов, скрупулезно разобраны информативность, эффективность и области адекватного применения каждого из десяти основных используемых методов сравнительного анализа геномов. Уместные детализация методических приемов и обсуждение ранее опубликованных примеров их применения, широта и разнообразие используемых методов анализа характеризуют автора как одаренного биоинформатика и отражают высокий методологический уровень выполнения диссертационной работы.

Результаты собственных исследований представлены автором в трех относительно самостоятельных главах диссертации. Первая глава посвящена общей характеристике инсерционно-делеционной вариабельности генома *D. melanogaster*. По результатам проведенного сравнительного анализа геномов свыше 160 популяций исследуемого вида

автором идентифицирован громадный объем видоспецифических инсерций и делеций, определен общий уровень инсерционно-делеционного полиморфизма в геноме *D. melanogaster*, рассчитаны средние частоты, составившие около 0,04 инсерций и 0,09 делеций на одну нейтральную однонуклеотидную замену. Выявлены особенности распределения полиморфных инсерций/делеций в функционально различных областях генома. Глубоко обоснованный подбор контролей, характеризующих уровень и специфичность нейтральных мутаций, в сочетании с удачным разбиением массива полиморфных инсерций/делеций на группы с различной частотой встречаемости соответствующих аллелей в совокупности популяций позволили автору детально охарактеризовать действие положительного и отрицательного отбора на возникающие в геноме вида инсерционно-делеционные мутации. К наиболее значительным достижениям рассматриваемой работы следует отнести открытие генной конверсии, смещенной в сторону инсерций. Тщательному и всестороннему рассмотрению влияния генной конверсии на закрепление инсерционно-делеционных изменений в геноме и выявлению особенностей генной конверсии у *D. melanogaster* посвящена вторая глава раздела. Автором, в частности, впервые определены численные значения смещения вероятности закрепления рассматриваемых мутаций и конверсионного преимущества для инсерций, возникающих в геноме *D. melanogaster*. В этой же главе кратко рассмотрены сходные тенденции смещения вероятности закрепления коротких инсерций и корреляции генной конверсии с частотами рекомбинации в различных локусах, выявленные автором в ходе дополнительных исследований инсерционно-делеционных изменений в геномах *H. sapiens* и *S. cerevisiae*. Подобное дополнение частично компенсирует излишнюю лаконичность автора при обсуждении полученных им результатов. Наиболее впечатлившие оппонента результаты помещены в третьей главе «Изменение адаптивного ландшафта при возникновении инсерций и делеций», где обсуждается возможная роль и функциональные последствия «естественного» инсерционно-делеционного мутагенеза в эволюции генома *D. melanogaster*. Среди выявленных автором закономерностей, представляющих особый научный интерес, следует отметить отличия синонимических и несинонимических сайтов по изменению скорости эволюции локуса после возникновения инсерции или делеции; различие между инсерциями и делециями по уровню последующего накопления аминокислотных замен в кодируемых локусах белков.

Принципиальные замечания к представленной работе у оппонента отсутствуют. Замеченные недостатки оформления диссертации включают:

- чрезмерную краткость обзора литературы, помещенного во Введение и не дающего достаточного развернутого обоснования цели и задачам исследования автора;
- отсутствие Заключения со сравнением характеристик инсерционно-делеционных изменений, опубликованных для геномов других групп организмов.

Оценивая диссертационную работу в целом, её можно уверенно квалифицировать как законченное комплексное научное исследование, успешно решающее крупную научную задачу в области эволюционной геномики, связанную с изучением роли видоспецифических инсерционно-делеционных изменений структуры ДНК на эволюцию геномов высших эукариот. Автореферат и публикации автора в высоко рейтинговых научных журналах полностью отражают содержание диссертационной работы. Научная значимость и практическая ценность полученных автором результатов не вызывает сомнений и соответствуют уровню кандидатской диссертации.

На основании вышеизложенного, считаю, что диссертационная работа Леушкина Е.В. «Анализ эволюции инсерций и делеций в последовательности ДНК, проводимый на основе сравнения полных геномов» соответствует всем критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением №842 Правительства РФ от от 24 сентября 2013 г., для диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 - математическая биология, биоинформатика.

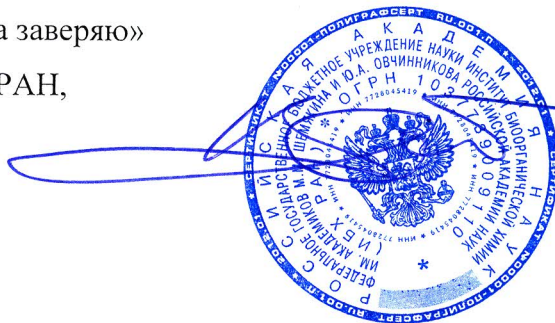
Заведующий лабораторией сравнительной
и функциональной геномики
Института биоорганической химии
им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,
д.б.н., проф.

Ю. Б. ЛЕБЕДЕВ

29.08.2014

«Подпись Ю.Б.Лебедева заверяю»

Ученый секретарь ИБХРАН,
д.физ.-мат.н., проф.



В. А. ОЛЕЙНИКОВ