

## ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Леушкина Евгения Владимировича «Анализ эволюции инсерций и делеций в последовательности ДНК, проводимый на основе сравнения полных геномов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 - математическая биология, биоинформатика

Работа Е.В. Леушкина посвящена изучению одной из очень интересных фундаментальных генетических проблем: эволюционной динамике коротких вставок и делеций в геномной ДНК (инделов). По сравнению с более ранними попытками изучения этого вопроса, автор исследовал полиморфизмы вставок и делеций на богатом фактическом материале, который стал доступен в результате применения технологий массового секвенирования. Объектом исследования был выбран геном хорошо изученного организма (*Drosophila melanogaster* в сравнении с родственными видами дрозофил).

В отличие от однонуклеотидных замен механизмы появления и фиксации инделов изучены в меньшей степени, тем более, в масштабе всего генома. При этом их роль в процессах молекулярной эволюции весьма велика. Поэтому очень интересными представляются задачи, поставленные в работе Е.В. Леушкина: измерить скорости мутагенеза, приводящего к возникновению инделов, оценить действие отрицательного и положительного отбора, оценить эффект воздействия вставок и делеций на эволюцию соседних участков генома, а также определить влияние генной конверсии на эволюцию самих вставок и делеций.

Для решения поставленных задач автором проведена большая исследовательская работа. Первая ее часть посвящена оценке параметров молекулярной эволюции вставок и делеций. Автор проанализировал статистику делеций и вставок в зависимости от их длин, локализации в различных функциональных участках генома (интроны, межгенные интервалы, экзоны), представленности аллелей в популяции и сравнил частоты встречаемости инделов с таковыми для однонуклеотидных замен. В результате анализа большого фактического материала диссертант сделал ряд важных оценок параметров давления отбора на основе анализа спектра аллельных частот. На основе этого анализа автор сделал вывод, что для всех исследованных типов геномных районов повреждающий эффект инделов

выше, чем однонуклеотидных замен; при этом повреждающий эффект делеции выше, чем у вставок.

Автор провел отдельный подробный анализ для коротких интронов (длиной менее 70 нуклеотидов), поскольку влияние инсерций и делеций на такие районы может иметь более выраженный эффект. Это предположение подтвердилось: доля повреждающих делеций оказалась наибольшей для делеций, которые делают интрон короче 50-ти нуклеотидов. Результаты оценок, проведенных автором, таким образом, позволили впервые получить систематическую картину особенностей фиксации и взаимодействия с факторами отбора для вставок и делеций в масштабе всего генома.

Автору удалось выявить интересные различия в зависимости фиксации инсерций и делеций в зависимости от частоты рекомбинации и длин инделов, а также показать, что инсерции и делеции подвергаются действию генной конверсии, смещённой в сторону инсерций.

Очень интересны результаты, связанные оценкой влияния вставок и делеций на последующую фиксацию синонимических и несинонимических (адаптивных) замен в белок-кодирующих участках генов. Результаты показали, что после фиксации инделов наблюдается превышение частот фиксации несинонимических замен, причем это превышение тем больше, чем ближе к участку индела располагается последующая замена. Полученные результаты свидетельствуют о фиксации таких замен под действием естественного отбора. Детальный анализ показал, что фиксация адаптивных замен действует непродолжительное время.

Хочу отметить, что представленные автором результаты имеют фундаментальный характер и были с большим интересом восприняты ведущими специалистами в этой области науки и активно обсуждаются в близких по тематике статьях (Toth-Petroczy and Tawfij, *Mol Biol Evol* 2013; Arpino et al. *Structure* 2014 и др.). В целом работа Леушкина по исследованию эволюции вставок и делеций в геномах эукариот на примере *Drosophila* выполнена на высоком теоретическом уровне, содержит ряд новых результатов, расширяющих современные представления о механизмах молекулярной эволюции геномов. Выводы, сделанные на основе исследований, являются обоснованными. Материалы работы были представлены на конференциях и опубликованы в зарубежных рецензируемых журналах из списка ВАК.

К работе есть несколько вопросов и небольших замечаний.

Для работ такого рода важным моментом является качество нуклеотидных последовательностей, поскольку систематические ошибки секвенирования и отклонения при сборке контигов могут влиять на полученные результаты.

Было бы желательно дать краткую оценку качества использованных в анализе нуклеотидных последовательностей. Автор подходит к этой проблеме, сравнивая отношение инделов, сдвигающих рамку считывания в белок-кодирующих экзонах (более вредных) к инделам, кратным трем, априори считая, что число реальных инделов со сдвигом рамки (не ошибок сборки) должно быть существенно меньше именно в силу их негативного влияния. Мне кажется, в такой ситуации как раз могут появляться систематические отклонения, связанные с секвенированием и сборкой контигов: сбой рамки считывания обычно привлекает большее внимание при аннотации по сравнению с другими мутациями и может верифицироваться дополнительно.

В автореферате не сформулированы положения, выносимые на защиту.

В диссертационной работе раздел «Обзор литературы» не имеет такого названия и входит в состав раздела «Введение». Было бы правильнее привести в этом разделе и остальные присущие ему части (цель и задачи, актуальность и т.д.).

На рис. 2 непонятно, что означают пунктирные линии над столбиками. На всех рисунках нумерация панелей выполнена латинскими буквами.

Есть ряд предложений, которые неправильно сформулированы. Например, на Стр 7 первый абзац сверху: «Как оценку доли нейтральных мутаций мы используем  $\xi$ , отношение высокочастотных полиморфизмов к низкочастотным» (нужно: отношения частот полиморфизмов).

Однако, с моей точки зрения эти замечания не влияют на качество работы как таковой и ни в коей мере не могут уменьшить вклад в эволюционную геномику, внесенный диссертантом.

Диссертационная работа Евгения Владимировича Леушкина «Анализ эволюции инсерций и делеций в последовательности ДНК, проводимый на основе сравнения полных геномов» является законченным фундаментальным научным исследованием, имеющим существенное научное и практическое значение в области эволюционной геномики и биоинформатики. Она соответствует всем требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», а сам Евгений Владимирович Леушкин заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

зам. директора ИЦиГ СО РАН,  
зав. лаб. геномной инженерии,  
д.б.н. доцент А.В. Кочетов

