

УТВЕРЖДАЮ



\_\_\_\_\_  
Директор  
ФГБУН Институт математических  
проблем биологии РАН  
д.ф.м.н., проф. В. Д. Лахно

\_\_\_\_\_  
2015 г.

отзыв ведущей организации на диссертационную работу

Сеплярского Владимира Борисовича

на тему "Паттерны и молекулярные механизмы мутагенеза у эукариот",  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.01.09 - математическая биология, биоинформатика.

**Актуальность.** Работа Владимира Сеплярского посвящена анализу нуклеотидных мутаций в геномах гоминид. Подобные анализы стали возможны благодаря данным по последовательностям геномов близких видов и данным по внутривидовому полиморфизму. В настоящее время доступны данные по полным геномам 1000 человек. Автор работы опирается лишь на 18 геномов человека секвенированных по сэнгеровской технологии и доступных к 2012 году: при этом даже на таком небольшом наборе геномов автору удается получить интересные результаты. Эти результаты было бы полезно развить на более полных современных данных. Механизм возникновения одиночных мутаций до сих пор изучен недостаточно: известно, что вероятность того что произойдет мутация различна для различных позиций генома, однако не вполне понятно, с чем это связано. Анализ расположения и свойств горячих точек мутагенеза (hotspot) является одной из важнейших задач для современной популяционной и эволюционной генетики. Решение этой задачи имеет значение, как для

фундаментальной науки, так и для медицинской геномики. Сказанное выше определяет актуальность представленной работы.

**Основные научные результаты**, полученные в диссертации, заключаются в следующем:

1. Показаны особые свойства таких позиций генома, что в данном геноме или геноме близкородственного организма произошла мутация (назовем их мутабельными). Показано, что (а) в таких позициях повышена (по сравнению со средней по геному) вероятность повторной мутации и (б) в этих позициях увеличена доля трансверсий (по сравнению со средней по геному). Этот эффект независимо продемонстрирован на трёх группах организмов: гоминидах, мухах рода *Drosophila* и грибах.

2. Аналогичный эффект, хотя и менее выраженный, был показан и для позиций, соседних с мутабельными позициями. Это также было продемонстрировано для всех указанных выше групп организмов.

3. Были исследованы нуклеотидные мутации, затрагивающие две позиции в геноме, находящиеся на расстоянии от 1 до 10 нуклеотидов (двойные мутации). Предложена модель, позволяющая получить численные оценки частоты двойных мутаций. Двойные мутации составляют 2.3% от количества одиночных мутаций в человеке, для плодовой мушки эта доля 5.6%.

4. По данным о мутационной подписи полимеразы зета было показано, что эта полимеразы оставляет больше мутаций в участках поздней репликации и на нетранскрибируемой цепи гена. Автор дал косвенное подтверждение того, что появление мутаций, приводящих к синдрому Костелло и боковому амиотрофическому склерозу, связано с особенностями функционирования полимеразы зета.

**Научная новизна** результатов определяется указанными выше наблюдениями, сделанными автором при анализе мутабельных сайтов, а также выводами на основе этих наблюдений. Большой интерес представляет описание, и исследование двойных мутаций. Для некоторых типов двойных мутаций был предложен и обоснован механизм их образования: автор связал мутации

GC>AA/TT с работой полимеразы зета. Принимая во внимание, что некоторые из GC>AA/TT мутаций вызывают тяжелые генетические заболевания, полученные автором результаты имеют не только теоритическое, но и важное практическое значение.

**Практическая ценность** состоит в разработанных подходах по изучению различных свойств hotspot мутагенеза и результатах полученных этими подходами. В диссертации решена важная задача построения модели для расчета частоты двойных мутаций, а также получен ряд других практически важных результатов. Например, показано, что в позициях генома с повышенной скоростью мутирования выше доля трансверсий, этот результат полезен для развития представлений о механизмах мутагенеза. Автор также продемонстрировал ранее неизвестную связь между работой полимеразы зета и мутациями, приводящими к синдрому Костелло и боковому амиотрофическому склерозу.

**Структура работы.** Диссертация имеет стандартную структуру и состоит из введения, раздела «Материалы и методы», четырех взаимосвязанных глав, в которых изложены полученные результаты, выводов и библиографии. Выделение материалов и методов в отдельный раздел необычно, однако не мешает пониманию диссертации. Общий объем составляет 93 страницы, диссертация включает 26 рисунков и 6 таблиц. Библиография содержит 120 ссылок.

В Главе 1 автор выделяет в группе родственных геномов важный специальный класс позиций (выше они для краткости названы мутабельными) и показывает, что в этих позициях наблюдаемая частота мутаций существенно превосходит ожидаемую. Неожиданным является то, что этот же эффект наблюдается и в позициях соседних с мутабельными. В Главе 2 продолжено исследование мутабельных позиций и позиций соседних с ними – на этот раз с точки зрения соотношения количеств транзиций и трансверсий в этих позициях. Показано, что доля трансверсий существенно увеличена по сравнению со средним по геному уровнем. Большой интерес представляет изложенный в главе 3 подход, позволяющий оценить долю двойных мутаций. Этот подход основан на анализе мутаций в соседних позициях, происшедших в родственных видах. Подход

применен для анализа геномов человека и мухи *D.melanogaster*. Глава 4 посвящена роли полимеразы зета в появлении двойных мутаций. Исследована зависимость частоты появления «мутационной подписи» полимеразы зета (замены GC>TT/AA) от времени репликации; показано, что на поздних стадиях репликации частота замен увеличивается. Показана асимметрия появления комплементарных мутаций GC>TT и GC>AA на нематричной цепи генов. Рассмотрена возможность связи указанных типов мутаций с рядом заболеваний и приведены существенные аргументы в пользу наличия такой связи.

**Замечания к работе.** Неудачно сформулированы выводы. Формулировка вывода 1 не дает ясного представления об интересном результате, полученном автором. Выводы 5, 6 и 7 стоило бы объединить в один пункт.

Работа содержит ряд неточностей и опечаток. На странице 11 рисунок 1 содержит надпись пирамидины, в подписи к рисунку встречается еще одна опечатка: написано транзизиций; в таблицах 4 и 5 в строчке 5 второго столбца указана мутация G>C, а должна быть мутация G>T; на странице 58 автор пишет про человеческий геном подкреплённый геномом шимпанзе, точнее было бы сказать что рассматривались позиции генома человека содержащие тот же нуклеотидный вариант что и геном шимпанзе.

**Рекомендации по практическому использованию.** Разработанные подходы имеют методическую значимость и могут быть использованы для изучения процессов мутирования в любой группе организмов для которой есть достаточные данные по последовательностям геномов. В целом, описанные в диссертации подходы и результаты могут быть использованы в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт математических проблем биологии РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт молекулярной генетики 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,

Новосибирском государственном университете и других научно-исследовательских организациях. Результаты, представленные в диссертации, могут быть использованы при чтении курсов по генетике и теории эволюции, которые читаются в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова и других ВУЗах страны.

**Заключение.** Результаты диссертации представлены в пяти статьях, опубликованных в международных рецензируемых журналах, а также в тезисах ряда международных конференций. Диссертационная работа Сеплярского Владимира Борисовича "Паттерны и молекулярные механизмы мутагенеза у эукариот" полностью соответствует критериям "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного Постановлением №842 Правительства РФ от 24 сентября 2013 г., а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.09 - "математическая биология, биоинформатика".

Отзыв рассмотрен на расширенном семинаре лаборатории прикладной математики ИМПБ РАН 23.11.2015 г., протокол №9.

Научный сотрудник лаборатории прикладной математики

ФГБУН Института математических проблема биологии РАН

к.ф.-м.н.

В. В. Яковлев

25 ноября 2015 г.

Тел. (4967) 318530

Подпись научного сотрудника лаборатории прикладной математики, к.ф.-м.н. Виктора Вадимовича Яковлева удостоверяю.

Начальник отдела кадров ИМПБ РАН



Т. А. Галушко