

**Отзыв**  
**на автореферат диссертации Денисова Степана Владимировича**  
**«Отбор и эпистаз в сайтах сплайсинга»,**  
**представленной к защите на соискание ученой степени кандидата**  
**биологических наук по специальности**  
**03.01.09 – математическая биология, биоинформатика**

Диссертационная работа Денисова С. В. посвящена изучению эволюции сайтов сплайсинга, а также системе регуляции сплайсинга, основанной на цис-элементе UGCAUG и предсказанию функциональности таких элементов. Альтернативный сплайсинг позволяет клетке получать не только большое число белков с ограниченного количества генов, но и через регуляцию экспрессии альтернативных изоформ влиять на множество клеточных процессов. Нарушения в системе альтернативного сплайсинга наблюдается в частности в опухолевых клетках, где они приводят к генерации постоянно активных и нерегулируемых белков. Огромное количество потенциальных сайтов сплайсинга (сотни тысяч на геном) и высокая доля детектируемых альтернативных транскриптов (от 20% до 80%) требуют разработки методов биоинформатического предсказания функциональности сайтов сплайсинга. Наконец, альтернативный сплайсинг существенно меняется в процессе эволюции эукариот. Таким образом, исследование альтернативного сплайсинга, его эволюции и регуляции имеет большое значение для фундаментальной и прикладной биологии.

В первой части работы Денисов С.В. исследует отбор в сайтах сплайсинга. Автором оценена сила отбора, действующего на консенсусные (часто встречающиеся) и неконсенсусные (редко встречающиеся) нуклеотиды в сайтах сплайсинга, по сравнению с эволюционно нейтральным участком генома. Автором показано, что консенсусные нуклеотиды гораздо реже чем ожидается заменяются на неконсенсусные, что свидетельствует о том что консенсусные нуклеотиды защищены отрицательным отбором. В то же время неконсенсусные нуклеотиды находятся под давлением положительного отбора, который способствует их замене на более функциональные консенсусные нуклеотиды. Диссертант подтверждает эти выводы как сравнением между близкими видами, так и на внутривидовом уровне. Оценивая многовидовую консервативность нуклеотидов в сайтах сплайсинга, автор показывает, что все консенсусные нуклеотиды более консервативны, чем эволюционно нейтральные последовательности, но в то же время неконсенсусные нуклеотиды во многих позициях сайтов сплайсинга также более консервативны, чем нейтральные последовательности, хоть и менее, чем консенсусные. Это говорит о том, что переход из неконсенсусных в консенсусные тоже иногда ограничен отбором. Оценивается также сила отбора в «молодых» сайтах сплайсинга – для них показано, что сила положительного отбора в них гораздо выше, чем в старых сайтах сплайсинга, что говорит о том, что эти сайты еще не достигли эволюционного равновесия.

Во второй части работы автором изучается зависимость эволюции одних позиций сайтов сплайсинга от других у млекопитающих. Показано, что в донорных сайтах сплайсинга происходит миграция сигнала из экзонной в интронную часть. Показан отбор против динуклеотида AG в акцепторном сайте сплайсинга. Результаты этой части автореферата позволяют автору сделать вывод об эпистатическом отборе, усиливающем существующие ковариации между нуклеотидами.

Наконец, в заключительной части работы автор изучает консервативность цис-регуляторов сплайсинга UGCAUG и предсказывает их функциональность. Показано, что консервативность этих гексонуклеотидов гораздо выше ожидаемой (50% для человека и 70% для мыши против 1.8% ожидаемой), что говорит о наличии отрицательного отбора и их функциональности. Также консервативны прилегающие к этим гексонуклеотидам участки интронов, что говорит о том, что эти окружающие участки также важны для процесса сплайсинга.

По результатам диссертационного исследования опубликованы 3 статьи в научных рецензируемых изданиях из перечня ВАК, работа представлена на российских и зарубежных научных конференциях.

Автореферат диссертации четко и логично излагает материал диссертации, результаты хорошо визуализированы в таблицах и рисунках. Выводы, полученные в ходе диссертационного исследования, соответствуют поставленным цели и задачам. Работа выполнена на высоком теоретическом уровне с использованием современных биоинформатических методов. Принципиальных замечаний по автореферату диссертации нет.

Анализ автореферата диссертации Денисова Степана Владимировича, позволяет заключить, что диссертация полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика».

30.03.2017

кандидат биологических наук  
научный сотрудник лаборатории механизмов гибели опухолевых клеток  
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

Татарский Виктор Вячеславович  
Адрес: 115478, г. Москва, Каширское шоссе д.23,  
e-mail: [tatarskii@gmail.com](mailto:tatarskii@gmail.com)  
Телефон: +79165535786

Подпись Татарского В.В. заверяю  
Ученый секретарь ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России  
Кандидат медицинских наук  
Кубасова Ирина Юрьевна

