

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова  
Российской академии наук  
(ИОГен РАН)

ул. Губкина, д. 3, г. Москва, ГСП-1, 119991  
Тел.: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41  
Факс: (499) 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru  
http: www.vigg.ru

УТВЕРЖДАЮ

Директор Института общей  
генетики им. Н.И. Вавилова РАН,  
д.б.н., проф. А. М. Кудрявцев

19 марта 2019

О Т З Ы В

ведущей организации на диссертационную работу **Мазина Павла Владимировича "Анализ возрастных изменений альтернативного сплайсинга в коре головного мозга высших приматов"**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности **03.01.09 — математическая биология, биоинформатика.**



**Актуальность.** Диссертация Павла Владимировича Мазина посвящена анализу разнообразия матричной РНК в клетках, взятых из различных отделов мозга человека и обезьян, возникающего в результате альтернативного сплайсинга генов. Отдельно анализируется зависимость процессов альтернативного сплайсинга в мозге человека и обезьян от возраста донора. Тема эта весьма актуальна, поскольку вклад альтернативного сплайсинга в молекулярное разнообразие нейронов, по-видимому, велик, но изучен очень слабо. Описание молекулярного разнообразия нейронов головного мозга и понимание механизмов, обеспечивающих это разнообразие, позволит подойти к решению фундаментальных проблем формирования большого числа типов нейронов, участвующих в различных процессах высшей нервной



деятельности, а также к возникновению различных патологий, связанных с возрастом, таких как возрастные деменции и нейродегенеративные заболевания.

Экспериментальные данные, позволяющие оценить разнообразие альтернативного сплайсинга в клетках различных отделов головного мозга, стали доступны в последние несколько лет, и одна из глав представленной диссертации посвящена анализу одной из первых выборок образцов головного мозга человека. Кроме анализа разнообразия альтернативного сплайсинга в различных разделах мозга в представленной работе изучено межвидовое разнообразие альтернативного сплайсинга у различных приматов. Такая постановка задачи позволяет подойти ближе к пониманию истории формирования репертуара мРНК и белков в нейронах человека, что в свою очередь в конечном счете должно дать понимание молекулярной базы уникальных когнитивных способностей *Homo sapiens*.

В диссертации Мазина Павла Владимировича изложен ряд новых методических приемов, позволяющих проводить сравнительный анализ возрастной динамики альтернативного сплайсинга у видов с различной продолжительностью жизни и изучать влияние различных регуляторных воздействий на альтернативный сплайсинг. Таким образом в представленной работе изучена оригинальная проблема с использованием оригинальных данных, полученных в самое последнее время, что подтверждает актуальность работы.

**Структура работы.** Изложение следует классической схеме с некоторыми модификациями. Текст диссертации состоит из пяти глав: введения, обзора литературы, методической главы, и двух глав, содержащих результаты, причем две последние главы содержат собственные методические введения. Обзор литературы содержит необходимые биологические сведения по инициации и регуляции транскрипции, а также краткое изложение современных методов анализа транскриптомов. Обзор написан достаточно широко и содержит интересные сведения о путях деградации РНК, в частности подробно рассмотрен путь, инициируемый преждевременным стоп кодоном. Кроме того, изложены современные исследования по транскриптомике головного мозга приматов. В третьей главе, которая называется



«Разработка метода анализа альтернативного сплайсинга» содержит изложение оригинальной процедуры определения событий альтернативного сплайсинга из данных секвенирования нового поколения, а также оригинальные методы оценки статистической значимости найденных событий. В четвертой и пятой главе излагается анализ экспериментального материала: в четвертой главе описываются возрастные изменения в альтернативном сплайсинге, проходящем в различных отделах мозга человека, в пятой – сравнительный анализ альтернативного сплайсинга у человека и двух видов обезьян. Диссертацию завершают выводы и список литературы.

**Научная новизна.** Автором впервые был проведен систематический анализ возрастных изменений альтернативного сплайсинга в различных отделах головного мозга (префронтальной коре и коре мозжечка). Впервые было продемонстрировано существование классов генов с различной динамикой включения элементов сплайсинга в различных отделах мозга на конкретных стадиях жизни человека. Впервые показано, что более чем 60% изменений альтернативного сплайсинга приходится на развитие (от рождения и до 20 лет). Сравнительный анализ возрастной зависимости альтернативного сплайсинга у человека и обезьян показал, что несмотря на достаточно большие различия в прохождении сплайсинга конкретных генов у разных видов, возрастные изменения альтернативного сплайсинга у всех изученных приматов подчиняются одной и той же закономерности: для раннего возраста характерно большее количество удержанных интронов, которое падает с возрастом и снова проявляет небольшую тенденцию к возрастанию в старости. Кроме того, диссертант разработал оригинальный алгоритм анализа альтернативного сплайсинга, а также интересную процедуру сопоставления возрастов у видов с различной продолжительностью жизни.

**Научная значимость результатов и их практическое значение.** Научная значимость результатов и практическое значение доказываются тем, что автором впервые изучена возрастная динамика альтернативного сплайсинга на уровне полных транскриптомов, причем изучение включало сравнительный анализ явления, наблюдавшихся в различных отделах мозга и в различных видах приматов. Открыты



новые явления в области возрастной динамики включения различных элементов генома в состав зрелых мРНК, в частности могущих вызывать преждевременную деградацию мРНК. С точки зрения фундаментальной науки, открытые диссертантом закономерности должны послужить отправной точкой для подробного исследования процессов формирования спектра изоформ в клетках мозга, и динамики состава изоформ при развитии и старческой деградации нейронов. Подобное исследование, например, может послужить хорошей отправной точкой для дальнейших исследований с помощью технологий секвенирования транскриптомов отдельных клеток. С научно-практической точки зрения, открытые автором закономерности могут использоваться для поиска генов, участвующих в формировании конкретных отделов мозга на конкретных стадиях развития, т.е. в детстве, в зрелом возрасте и в старости, и изучения найденных генов как возможных мишеней при различных нарушениях функционирования мозга, в частности при неврологических, психических или нейродегенеративных заболеваниях.

**Замечания к работе.** Работа, в целом, очень аккуратно написана и оформлена, однако имеет место ряд недостатков. С содержательной точки зрения наибольшие вопросы вызывает построение статистических моделей. В качестве основной модели для описания покрытия участков генома прочтениями, реализованной в программе SAJR выбрана обобщенная линейная модель, в которой предполагается биномиальное распределение прочтений, поддерживающих и исключающих конкретный сайт сплайсинга. Такие модели в настоящее время считаются недостаточно гибкими, ввиду распространенного в экспериментах по секвенированию нового поколения явления «повышенной дисперсии» (overdispersion) в статистике картированных прочтений. В настоящее время предпочтительными кажутся двупараметрические модели, например, использующие обратное биномиальное распределение.

Другой вопрос относится к моделированию зависимости от возраста (раздел 5.1.5). В диссертации используется достаточно сложная модель, в которой одной из переменных является квадрат логарифма возраста. В целом, по результатам модель работает достаточно хорошо, но с точки зрения конструирования модели конкретное



значение возраста вносит вклад как в линейный, так и в нелинейный член, что по идее должно делать модель неустойчивой, и отдающей предпочтение то одному, то другому вкладу, в зависимости от случайных факторов.

Имеется ряд редакционных замечаний. Неудачен вывод 3 в разделе 5.3. «Возрастная регуляция сплайсинга кодирующих и кассетных не кодирующих белок сегментов консервативна в изучаемых видах. В то же время, количество возраст-зависимых удержанных интронов существенно больше у человека, чем у других видов». Количество возраст-зависимых удержанных интронов является одним из результатов регуляции не кодирующих белок сегментов, поэтому эта формулировка противоречива.

Сделанные замечания не умаляют общего высокого уровня работы.

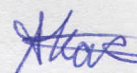
**Рекомендации по практическому использованию.** Результаты диссертации могут использоваться при проведении научных исследований в области медицинской и генетической биоинформатики. Описанные в диссертации методы и статистические закономерности могут быть использованы в Федеральном государственном бюджетном 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 математических проблем биологии 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, Высшей школе экономике, Сколковском технологическом университете, Новосибирском государственном университете и других учебных и научно-исследовательских организациях.

**Заключение.** Диссертационная работа Мазина Павла Владимировича «Анализ возрастных изменений альтернативного сплайсинга в коре головного мозга высших приматов» является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена задача анализа возрастной динамики альтернативного сплайсинга у



человека и близких видов приматов. Решение этой задачи имеет большое значение для задачи понимания механизмов реализации генетической информации (транскрипция) и механизмов регуляции экспрессии генов, а также задач компьютерной геномики (пункт 3 паспорта специальности 03.01.09). По совокупности полученных результатов работа Мазина Павла Владимировича соответствует п.7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК МОН Российской Федерации, утвержденных Постановлением Правительства РФ № 74 от 30 января 2002 года в редакции от 20.06.2011 №475. Результаты достоверны и достаточно полно опубликованы, автореферат адекватно отражает содержание диссертации. Автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика. Материалы диссертации были рассмотрены и обсуждены на Межлабораторном семинаре ИОГен РАН 18 марта 2019 года (протокол № 1).

кандидат физико-математических наук,  
ведущий научный сотрудник  
лаборатории системной биологии и вычислительной генетики  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института общей генетики им. Н. И. Вавилова  
Российской академии наук (ИОГен РАН)



/Касьянов А.С./

19 марта 2019 года

Подпись научного сотрудника лаборатории системной биологии и вычислительной генетики ИОГен РАН, кандидата физико-математических наук Касьянова Артема Сергеевича удостоверяю.

Ученый секретарь ИОГен РАН  
д.б.н., проф. Абилев С.К.

