

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента на диссертацию Марии Александровны Андриановой  
**«Характеристики точечного мутагенеза в раковых клетках человека»**,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности «03.01.09 – математическая биология, биоинформатика»

### **Актуальность темы**

Диссертационная работа Марии Александровны Андриановой посвящена изучению действия различных мутационных процессов в ходе онкогенеза. Изучение процессов, которые действовали на ранних этапах развития опухоли, дает понимание того, какие мутационные события могли стать «драйверами» онкогенеза. Поиск драйверных мутаций требует построения точной мутационной нулевой модели, описывающей распределения мутаций в геноме без отбора. Понимание мутационных процессов, происходящих в опухоли на более поздних этапах, важно с терапевтической точки зрения, так как может дать информацию о прогнозе течения заболевания и потенциальных мишенях для терапии. Анализ изменения мутационных процессов во времени важен как с фундаментальной, так и с практической точки зрения.

В то же время задача, решению которой посвящена диссертация М.А.Андриановой, довольно сложна по ряду причин. Во-первых, мутации, наблюдаемые в раковых образцах, являются результатом действия различных независимых процессов, которые происходили на всем протяжении развития опухоли. Характер этих процессов, а также время их действия и интенсивность существенно различаются. Во-вторых, опухолевые образцы, как правило, представляют собой смесь различных клеточных субпопуляций и здоровых клеток, которые по-разному подвергались воздействию мутационных процессов. Тем самым необходимо учитывать не только сам факт наличия мутации, но и частоту ее встречаемости в прочтениях. В-третьих, в раковых образцах распространены крупные геномные перестройки и сопряженные с ними изменения копийности отдельных участков генома, что затрудняет правильный учет частоты мутаций. Наконец, сама по себе технология

высокопроизводительного секвенирования вносит неизбежные ошибки в исследуемые данные.

### **Научная новизна диссертационного исследования, значимые научные результаты**

В ходе выполнения диссертационной работы был получен ряд новых и научно значимых результатов. Основываясь на классической модели работы репликационной вилки, в которой каждая цепь реплицируется своей полимеразой, было показано, что система репарации у человека компенсирует неравномерность скоростей мутирования между лидирующей и отстающей цепями. В ходе выполнения данной работы был описан возможный биологический механизм описанной ранее мутационной подписи с неизвестной этиологией (14 в нумерации базы данных COSMIC). Были изучены и описаны различия механизма мутаций С→А в базальноклеточной карциноме и меланоме. Проведен генетический анализ экзонов и одного генома пациентов с гипермутабельным фенотипом и высказаны предположения о механизме возникновения этого фенотипа. Разработан статистический метод оценки доли мутаций под положительным отбором, с помощью которого показано, что эта доля в немутабельных раках выше, чем в мутабельных. Наконец, было показано, что в ходе развития раковой опухоли изменяется как характерный мутационный спектр опухоли, так и распределение мутаций вдоль генома и между цепями ДНК.

### **Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций. Структура работы**

В ходе исследований применялись как традиционные, так и разработанные автором методы анализа геномных последовательностей и их вариантов. Научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в рецензируемой диссертации, обоснованы проведенным анализом публикаций в области онкогеномики и биоинформатики. Предложенные в диссертационной работе научные положения и выводы можно признать обоснованными.

Диссертация изложена на 114 страницах машинописного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, результаты и обсуждение в четырёх главах, основные результаты и выводы. В конце приведён список литературы. Материал включает 37 рисунков и 9 таблиц в основном тексте, 9 рисунков и 7 таблиц в приложении, а также список литературы, содержащий 128 ссылок.

По материалам диссертации опубликовано три статьи в рецензируемых международных научных журналах, входящих в основные библиометрические базы данных (PubMed, WoS и Scopus). Результаты работы были представлены на международных и отечественных конференциях.

### **Замечания**

Глава 1. В пункте 1.2 анонсировано обсуждение в пункте 1.4 различий в числе и типах ошибок на лидирующей и отстающей цепях, однако его там нет, возможно, в силу ошибки нумерации пунктов. Асимметрия между мутационными процессами в лидирующей и отстающей цепях ДНК (т.наз. репликационная асимметрия) весьма кратко описывается в пункте 1.6. Поскольку изучение работы системы репарации на лидирующей и отстающей цепях является одним из важных результатов данной работы (Глава 2), более подробное описание текущих представлений о репликационной асимметрии в Главе 1 было бы весьма уместно.

Глава 2. В пункте 2.1.1 («Мутационные данные») дано краткое и самое общее описание использованных данных из различных источников без каких-либо цифр. Пункт 2.1.2 с описанием методики определения соматических мутаций в ультрамутабельных раках смущает краткостью (две с половиной строки). Пункты 2.1.3 и 2.1.4 описывают различные методы определения того, как реплицируется референтная цепь ДНК в данной позиции генома – как лидирующая или отстающая – по производной времени репликации и по секвенированию фрагментов Оказаки, соответственно. При чтении этого раздела непонятно, каким образом результаты этих методов далее используются совместно, насколько они согласуются.

Глава 3. Метод, кратко описанный в пункте 3.1.10 («Оценка доли мутаций под положительным отбором в генах-супрессорах»), вызывает некоторые вопросы. В частности,

в явном виде не сформулировано критически важное предположение о том, что избыток вредных мутаций является признаком действия положительного отбора, а не ослабления стабилизирующего, именно в силу специфики генов-супрессоров.

Глава 5. Лаконизм в описании методической части (Например, пункт 5.1.1: «Мы получили данные по мутациям и файлы в формате bam из базы данных TCGA», без цифр). Ошибка в нумерации (4.2.2 вместо 5.2.2).

Требовательный читатель также обнаружит в тексте работы некоторую небрежность изложения. Например, термины «скорость мутации» и «частота мутации» используются попеременно как синонимы. В разных главах используется различная система обозначений мутаций: как  $C:G \rightarrow A:T$ , так и  $C \rightarrow A/G \rightarrow T$ . В таблицах 2.2 и 2.4 объектом описания является «Крайний правый бин». В тексте также есть стилистические шероховатости (например, «Из рисунка 2.11... мы получили отношение скорости», «Из рисунка 2.11 находим, что значение равно 0.65») и ошибки («Причина появления (чего? – В.Р.) состоит в нарушении пролиферации»). Некоторые рисунки (например, 2.3-б) настолько малы, что почти не читаются.

### **Заключение**

Приведенные выше замечания не снижают научный уровень и практическую ценность рецензируемой работы. Необходимо отметить разнообразие использованных в работе методов и данных и большой объем полученных результатов. Описанные выше недостатки текста работы, очевидно, объясняются необходимостью вместить очень много информации в ограниченный по объему текст. Автореферат и опубликованные статьи в полной мере отражают содержание диссертации. Актуальность темы, степень обоснованности выводов и научных положений работы, достоверность и новизна результатов позволяют заключить, что диссертация «Характеристики точечного мутагенеза в раковых клетках человека» представляет собой законченную научно-квалификационную работу высокого уровня.

Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации к кандидатским диссертациям, а её автор

Мария Александровна Андрианова несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент

**Василий Евгеньевич Раменский,**

*Раменский 16.09.2019*

кандидат физико-математических наук,

руководитель Лаборатории геномной и медицинской биоинформатики

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр

профилактической медицины» Минздрава России

101990 г. Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр.3

Эл. почта: VRamensky@gnicpm.ru

*7(916)681-9326*

Подпись *В.Е. Раменского В.Е.*

ЗАВЕРЯЮ:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ-ПМ»  
Минздрава России

д.б.н., профессор

*Метельская В.А.*

