

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН «Центральный
научно-исследовательский институт
эпидемиологии» Роспотребнадзора,
академик РАН, профессор



В.Г. Акимкин

« 07 » сентября 2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу

Клиник Галины Викторовны на тему **«Расположение аминокислотных
замен на эволюционном дереве как показатель изменчивости
однопозиционного адаптивного ландшафта»** на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая
биология, биоинформатика

Актуальность темы исследования. Функция, связывающая генотип и приспособленность его обладателя, называется адаптивным ландшафтом, или ландшафтом приспособленности. Эта функция определяет изменчивость генотипов во времени и ее знание позволяет предсказывать направление эволюции. В практическом плане понимание устройства адаптивных ландшафтов позволяет определять эффекты мутаций в геноме человека, предсказывать штаммы патогенов, способные приводить к вспышкам заболеваемости, прогнозировать выживаемость популяций, определять функциональные взаимодействия между сайтами белков. Изучение адаптивных ландшафтов осложнено их высокой размерностью и требует наличия большого объема экспериментальных данных. Во многих случаях получение достаточного объема данных невозможно даже теоретически, например, для организмов с большими геномами. Одним из способов решения подобных задач является снижение их размерности, например, рассматривая срезы или проекции многомерной функции. Минимальный срез – это

однопозиционный адаптивный ландшафт – ОПАЛ. Актуальность исследований, посвящённых эволюционной роли изменчивости ОПАЛов, подтверждается многочисленными публикациями по этой теме. В работе Г.В.Клинк предложены новые методы изучения роли изменчивости ОПАЛов в эволюции белков и представлены результаты, полученные с помощью этих методов для белков митохондрий и вирусов.

Структура работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы, состоящего из 99 источников. Содержательная часть работы изложена на 115 страницах текста, включает 25 рисунков, 2 таблицы и 14 приложений.

Первая глава - «Обзор литературы» - достаточно полно и понятно описывает результаты исследований по теме диссертации. Главы 2-4 описывают три разработанных автором метода и полученные с их помощью результаты. Главы построены по одной схеме и содержат описание методов, результаты, их обсуждение и заключение. Главы объединены общей темой, и описанные в них результаты дополняют друг друга.

Научная новизна. Все исследования, описанные в диссертации, обладают высокой степенью новизны.

В Главе 2 роль изменчивости ОПАЛов в эволюции белков митохондрий показана с помощью разработанного автором метода, основанного на анализе расположения аминокислотных замен на филогенетическом дереве. В отличие от существующих методик, представленный в работе метод определения изменчивости ОПАЛов устойчив к кластеризации замен на одну и ту же аминокислоту, не связанной с изменениями адаптивных ландшафтов.

Ранее было показано, что вероятность наблюдать патогенную для человека аминокислоту как аллель дикого типа в другом биологическом виде либо не зависит от эволюционного расстояния до линии человека, либо возрастает с этим расстоянием. В Главе 3 диссертации впервые показано, что в митохондриальных белках замены на известные патогенные для человека варианты чаще возникают в видах, эволюционно близких к человеку, по

сравнению с заменами на аминокислоты, не встречающиеся у людей. Это наблюдение должно учитываться при использовании филогенетической информации для предсказания эффектов мутаций в геноме человека и других организмов.

В главе 4 диссертации описан новый метод поиска отдельных аминокислот в сайтах белков, обладающих разной приспособленностью в разных видах, для которых доступно много (несколько тысяч или более) известных генотипов. В настоящее время такие данные есть для некоторых патогенов, таких как ВИЧ и вирусы гриппа, на примере которых и были продемонстрированы возможности данного метода.

Обоснованность и достоверность результатов и выводов.

Результаты работы опубликованы в высокорейтинговых научных журналах и доложены на международных конференциях, что подтверждает их обоснованность. Результаты работы согласуются с существующими представлениями об эволюции белков и дополняют их. Согласованность результатов, полученных методом, изложенным в главе 4, с экспериментом также подтверждает их обоснованность и достоверность.

Значимость полученных результатов для науки и практики.

Полученные результаты имеют как фундаментальное, так и практическое значение, и вносят вклад в понимание роли изменений однопозиционных адаптивных ландшафтов в эволюции белков. Результаты, полученные автором для белков митохондрий, могут быть учтены при разработке методов определения эффектов мутаций в геноме человека. Интересной научной задачей является выяснение биологической функции сайтов и аминокислот, для которых были показаны изменения приспособленностей в процессе эволюции. Важно отметить, что не только конкретные результаты работы, но и сами разработанные в ходе этого исследования подходы могут быть использованы научным сообществом.

Рекомендации по использованию научных результатов и выводов диссертации. Описанные в диссертации методы могут быть использованы для

изучения изменчивости ОПАЛов в любых системах, для которых возможно построить достаточно большие филогенетические деревья. Описанный в Главе 4 метод поиска сайтов в белках с изменяющимися ОПАЛами может применяться при изучении эволюции патогенов и поиске функционально важных сайтов. Учитывая быстрое развитие методов секвенирования, со временем область применения разработанных методов будет расширяться.

Полнота изложения материалов диссертации в печатных работах.

Основные положения и результаты диссертационного исследования изложены автором в 1 печатной и 6 электронных работах, в том числе в двух статьях по теме диссертационной работы в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных научных результатов диссертации, и пяти тезисах, представленных на международных и российских конференциях. В опубликованных работах полностью изложен материал диссертации.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации.

Автореферат выполнен в соответствии с требованиями и полностью отражает содержание диссертации и научных публикаций и раскрывает положения, выносимые на защиту.

Личный вклад автора. Все результаты, включенные в диссертацию, получены лично соискателем или при его непосредственном участии. Обсуждение и интерпретация результатов осуществлялись автором совместно с научным руководителем и соавторами публикаций.

Соответствие диссертационной работы паспорту научной специальности. Диссертационная работа соискателя Г.В.Клинк соответствует паспорту избранной специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика (согласно п.п. 2 и 3 Паспорта номенклатуры специальностей научных работников по данной специальности).

Замечания. Работа является целостным исследованием, хорошо написана, результаты исследований представлены полно и наглядно. Однако возник ряд вопросов и замечаний по сути работы:

- На рисунке 14 патогенные аллели человека возникают независимо в достаточно далеких группах живых организмов, например, такие аллели ни разу не возникали у млекопитающих. На глаз, это не выглядит слишком убедительно, особенно по сравнению с примерами, представленными на рисунках 15 – 17. Существует ли какое-либо существенное систематическое различие, например, по степени радикальности замен или степени тяжести, вызванного у человека дефекта между примерами, представленными на рис. 14 и рис. 15-17?

- Какая доля АВП будет определена как аминокислоты в сайтах под направленным отбором с помощью DEPS [MBE 25(9): 1809-1824] или в сайтах под «переключающимся» отбором с помощью TOGGLE [PLoS Pathogens 4(12): e1000242] из пакета программ HYPHY?

- На рисунке 22в есть некоторое количество красных точек, расположенных существенно ниже пунктирной диагонали. Эти точки, по-видимому, соответствуют аминокислотам, приспособленность которых в экспериментах DMS существенно отличается от приспособленности *in-vivo*. Есть ли среди этих сайтов/аминокислот известные адаптации к культурам клеток?

- Стр. 35. «По нашим результатам, отношение П/Д достигало 1.7-2.5 на филогенетических расстояниях меньше 0.1, быстро падая до 1.0 с увеличением расстояния (Рисунок 8, Приложение 2)» - на больших филогенетических расстояниях на рисунке 8 для многих белков, например, COX1, CYTB, ND1 и др., П/Д убывает до значений 0.6 – 0.7, примерно с той же скоростью. Не очень понятно, о чем идет речь в утверждении автора.

- Стр. 44. «В целом, скорость изменения ОПАЛов в наших данных сопоставима со скоростью аминокислотных замен (Рисунок 8), что

согласуется с [61]» - как из рисунка 8 следует, что скорость изменения ОПАЛов сопоставима со скоростью аминокислотных замен?

- Стр. 65. «Аминокислоту считали «потенциально значимой» (проксимальной или дистальной), если минимальная достижимая значимость (то есть, доля нулевых подвыборок, попавших в крайнюю точку нулевого распределения) была меньше α . Мы определяли ожидаемую долю ложноположительных результатов (false discovery rate, FDR) как $\operatorname{argmin}((\alpha \times \text{PotVar})/\text{VarFit}, 1)$, где α – уровень значимости, PotVar – число потенциально значимых аминокислот для данного α , VarFit – число значимых аминокислот для данного α » - определение FDR написано непонятно. Хочется подчеркнуть, что PotVar – не должен зависеть от альфа, если под альфа понимать пороговое значение p-value. $\text{FDR} = E[V/R]$ – где V/R - доля ложноположительных тестов относительно всех тестов объявленных положительными или значимыми. Тогда $\text{FDR} \leq P_k * m/k$, где m – число аминокислот, для которых применялся тест, k – число тестов, которые объявлены значимыми, P_k – p-value для теста k ($k < m$), тогда выполняется $E[V] \leq P_k * m$.

Также имеются незначительные опечатки, но они не имеют принципиального значения. Перечисленные замечания не подвергают сомнениям высокий уровень работы и не снижают её научную значимость.

Заключение.

Диссертационная работа Галины Викторовны Клинк на тему: «Расположение аминокислотных замен на эволюционном дереве как показатель изменчивости однопозиционного адаптивного ландшафта», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – определение изменения однопозиционных адаптивных ландшафтов на эволюцию белков, имеющей важное значение для эволюционной биологии и биоинформатики.

По содержанию, актуальности, новизне, научно-практической значимости результатов и их достоверности диссертационная работа Г.В.Клинк полностью отвечает требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции с изменениями, утверждёнными Постановлением Правительства Российской Федерации от 1 октября 2018 г. № 1168), предъявляемым к диссертациям, предъявляемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Отзыв на диссертационную работу Г.В.Клинк был заслушан, обсуждён и одобрен на заседании Научно-технического совета ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и группы биоинформатики 15 апреля 2020 года, протокол № 12. Основное направление научно-исследовательской работы научной группы биоинформатики соответствует тематике диссертационной работы.

Руководитель научной группы
биоинформатики ФБУН ЦНИИ
Эпидемиологии Роспотребнадзора,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

Неверов Алексей Дмитриевич

Подпись к.б.н. Неверова А.Д. заверюю:

Ученый секретарь
ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора,
канд.мед.наук



Никитина Т.С.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
111123, г. Москва, ул. Новогирсевская, д. 3а
Тел. 8-495-672-10-69; E.mail: crie@pcr.ru