

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.101.01  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ПРОБЛЕМ  
ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ ИМ. А.А. ХАРКЕВИЧА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК**

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета  
от 25 сентября 2023 года, протокол № 13

О присуждении Червонцевой Зое Сергеевне,  
гражданке Российской Федерации,  
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние вторичной структуры мРНК на экспрессию генов» по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика, принята к защите 20 июля 2023 года, протокол № 11, диссертационным советом 24.1.101.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук (ИППИ РАН) (127051, г. Москва, Большой Каретный переулок, д. 19, стр. 1, приказ о создании № 978/нк от 16 декабря 2013 года).

Соискатель **Червонцева Зоя Сергеевна**, гражданка РФ, 1992 года рождения, в 2014 году окончила факультет биоинженерии и биоинформатики Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова по специальности «биоинженерия и биоинформатика». В период подготовки диссертации с 2015 года по 2023 год соискатель работала в должностях стажера-исследователя и младшего научного сотрудника в Учебно-научном центре «Биоинформатика» ИППИ РАН.

**Диссертация выполнена** в Учебно-научном центре «Биоинформатика» ИППИ РАН.

**Научный руководитель – Михаил Сергеевич Гельфанд**, доктор биологических наук, профессор, заведующий Учебно-научным центром

«Биоинформатика» ИППИ РАН; профессор Сколковского института науки и технологии.

**Официальные оппоненты:**

**Самсонова Мария Георгиевна**, гражданка РФ, доктор биологических наук, профессор кафедры «Прикладная математика», заведующая научно-исследовательской лабораторией «Научно-исследовательская лаборатория математической биологии и биоинформатики» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого».

**Дмитриев Сергей Евгеньевич**, гражданин РФ, кандидат биологических наук, заведующий отделом взаимодействия вирусов с клеткой Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

**дали положительные отзывы на диссертацию.**

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что за последние годы ими было опубликовано большое количество научных работ в области биоинформатики, геномики и популяционной генетики, в том числе по темам, относящимся к тематике диссертации.

**Ведущая организация** – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» дала **положительное заключение**, подписанное кандидатом биологических наук Ступниковым Алексеем Ильичем, научным сотрудником, зам. зав. лаборатории биоинформатики клеточных технологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», и утвержденное кандидатом физико-математических наук Баганом Виталием Анатольевичем, проректором по научной работе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)». В заключении отмечается актуальность работы, ее научная новизна и значимость, полнота изложения в

публикациях, достоверность изложенных результатов, и содержится **ряд замечаний**:

1. Детали специально разработанной процедуры рандомизации, используемой для статистического анализа, описанные в секции 2.1.4, изложены слишком кратко.
2. Также излишне кратко изложены методы и результаты главы 3, отчего понимание этой части работы затрудняется.
3. Нумерация таблиц в приложении начинается с 2.
4. Используемый в секции 4.2.6 тест Манна-Уитни делается в предположении о независимости сравниваемых выборок. Однако независимость значений в построенных группах неочевидна. Более четкое и полное обоснование независимости значений сравниваемых групп позволило бы устранить сомнения в применимости теста Манна-Уитни.

Несмотря на замечания, **в отзыве содержится высокая оценка научного уровня диссертационной работы и сказано**, что «в представленной диссертации Червонцевой З.С. успешно решены поставленные задачи и достигнута поставленная цель. Диссертационная работа выполнена на высоком уровне и соответствует критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации, Червонцева Зоя Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика».

**Соискатель имеет 7 статей в российских и международных рецензируемых журналах, включенных в международные библиографические базы данных и перечень ВАК, из них 3 статьи по теме диссертации, общим объемом 31 страница. Кроме того, соискателем опубликовано 3 тезиса по теме диссертации в материалах российских и международных конференций.**

**Статьи по теме диссертации:**

1: Moldovan M.A., Chervontseva Z.S., Nogina D.S., Gelfand M.S. A hierarchy in clusters of cephalopod mRNA editing sites // Sci Rep. 2022, V. 12. No. 1. P. 3447 (11 стр., Q1).

2: Moldovan M., **Chervontseva Z.**, Bazykin G., Gelfand M.S. Adaptive evolution at mRNA editing sites in soft-bodied cephalopods // PeerJ. 2020 , V. 8, P. e10456 (23 стр., Q1)

3: Osterman I.A.\*, **Chervontseva Z.S.\***, Evfratov S.A., Sorokina A.V., Rodin V.A., Rubtsova M.P., Komarova E.S., Zatsepin T.S., Kabilov M.R., Bogdanov A.A., Gelfand M.S., Dontsova O.A., Sergiev P.V. Translation at first sight: the influence of leading codons // Nucleic Acids Res. 2020, V. 48, No. 12, P. 6931-6942 (12 стр., Q1, \* - совместное первое авторство).

**Вклад диссертанта в опубликованные работы по теме диссертации состоит в непосредственном планировании исследований, участии в постановке задач, теоретической разработке и практической реализации подходов к анализу данных, обработке и анализе данных.** В одной из журнальных публикаций диссертант является ко-первым автором.

Полученные результаты могут быть использованы при чтении спецкурсов на естественнонаучных факультетах ВУЗов (в первую очередь, на биологических и биоинформатических факультетах). Кроме того, полученные автором результаты и разработанные подходы к анализу данных могут служить основой для проведения последующих исследований в области анализа структур мРНК и их влияния на эффективность трансляции (в т.ч. в биотехнологических приложениях), а также анализа редактирования мРНК.

**В отзыве оппонента Самсоновой Марии Георгиевны, в целом давшей работе высокую оценку и рекомендовавшей диссертацию к защите, сделаны следующие замечания:**

1. Как известно, редактируются несплайсированные транскрипты, у которых вторичная структура может отличаться от вторичной структуры мРНК после сплайсинга.
2. Была бы интересна информация о том, что собою представляют участки транскриптомов с высокой гомологией между видами, которые анализировали? Что это были за участки, из каких транскриптов, нет ли предпочтения и сдвига в сторону какой-то определенной функциональной группы транскриптов, например housekeeping genes?
3. Часть вывода 7 по работе о том, что консервативно редактируемые аденины чаще находятся в структурированных областях, чем

неконсервативно редактируемые, статистически подтверждается только для сайтов с низким уровнем редактирования.

4. Заключение по проделанной работе умещено на полстраницы, что вызывает обоснованное удивление. Возможно, это объясняется эклектичностью диссертации, что не позволило диссертанту обобщить результаты и поместить их в глобальный контекст.

**В заключении отзыва указано, что** «по актуальности, научной новизне, научно-практической значимости диссертация З.С.Червонцевой “Влияние вторичной структуры мРНК на экспрессию генов” является законченной научно-квалификационной работой и отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор З.С. Червонцева заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика».

**В отзыве оппонента Дмитриева Сергея Евгеньевича** в целом дана высокая оценка работе, но **имеется ряд замечаний и вопросов:**

1. Заявление о том, что в работе «Впервые исследовано влияние случайных вставок в начале гена на эффективность инициации трансляции мРНК *Escherichia coli*» едва ли можно признать корректным с учётом наличия нескольких весьма известных работ, где был использован похожий подход (Goodman et al, 2013 в Science; Kudla et al., 2009 в том же журнале; другие статьи, в том числе цитируемые автором), а также с учётом того, что все выводы в этой части работы делали на основе оценки уровня репортерного белка, а он мог зависеть отнюдь не только от инициации трансляции, но и от стабильности белка, мРНК и ряда других причин.
2. Утверждение «Один и тот же фрагмент чаще всего попадал в ту же фракцию, а если и оказывался в другой, то чаще всего в соседней (Рисунок 2.2)» (стр. 31) вызывает сомнения, поскольку из Рис. 2.2 следует, что это неверно для двух из пяти фракций (крайних, 1 и 5) – и это, наверное, следовало бы отметить.
3. Вывод о том, что вставки из эффективно транслируемых фракций обеднены ШД-подобными участками (стр. 34), кажется, не стоит напрямую соотносить с результатами работ [59] и [66] (фраза «Это

подтверждает предыдущие наблюдения о негативном влиянии внутригенных ШД-подобных участков на эффективность трансляции)), поскольку в тех работах речь шла о «притормаживании» элонгирующей рибосомы, а тут – скорее всего, о помехах инициации трансляции.

4. Почему «сила эффекта аминокислоты была посчитана как взвешенная сумма эффектов кодонов, соответствующих этой аминокислоте, с весами, соответствующими частотам этих кодонов в генах *E. coli*» (стр. 29)? Учитывались ли в анализе влияния вставок на уровень продукта трансляции наличие во вставке AUG-подобных кодонов, особенно не в рамке со стартовым AUG?
5. Каково количество проанализированных пар в разделе 3.2.1, где представлены данные о корреляции степени структурированности участков полицистронных мРНК, кодирующих эквимоллярные субъединицы одного комплекса?
6. Непонятен дизайн участков, в которые вставляли AUG: судя по Приложению, во всех конструкциях последовательности похожи, но начиная с конструкции «+11», в них начинает варьировать количество С на 5'-конце, из-за чего кодоны и кодируемые ими аминокислоты оказываются разными.
7. В главе 3.2.2, повествующей об отсутствии явной связи между общей структурированностью мРНК и скоростью ее деградации, при анализе по 100-нуклеотидным фрагментам выделены группы генов с положительной (211 генов) и с отрицательной (161 ген) корреляциями между уровнем структурированности и временем жизни фрагмента – однако больше об этих группах ничего не сказано. Была ли попытка выявить какие-то общие черты внутри групп и – главное – различающиеся черты между группами?
8. В главе 3.2.2 данные об эффективности трансляции, вторичной структуре и скорости деградации брали из разных источников – в таких случаях, возможно, имело смысл уточнить, насколько одинаковыми были штаммы, среда и условия роста клеток, в которых были получены данные разными группами авторов.
9. Также в названии раздела 4.2.6 и в Выводе 8 («Сайты, сближенные благодаря структуре, чаще редактируются одновременно») слово «одновременно» немного вводит в заблуждение: на самом деле показать использованными в работе методами, что сайты

редактируются именно «одновременно», нельзя – но можно говорить об их скоординированном редактировании.

Кроме того, в отзыве приведены редакционные замечания.

**В отзыве отмечено, что** «несмотря на все эти незначительные недочёты и оставшиеся неосвещёнными небольшие второстепенные вопросы, в работе получены и адекватным образом изложены бесспорно очень интересные результаты, которые представляют большую ценность для науки. Особенно интересна и оригинальна, на мой взгляд, обнаруженная зависимость от метаболической стоимости аминокислот, а также выявленные в последней части работы закономерности в структурной организации областей мРНК, окружающих редактируемые сайты».

**В заключении отзыва указано, что** «диссертационная работа Червонцевой Зои Сергеевны “Влияние вторичной структуры мРНК на экспрессию генов”, выполненная в Институте проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук, представляет собой цельное и законченное исследование. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, соответствует критериям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует специальности 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика. Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертации. Основные результаты опубликованы в трех статьях в международных журналах, входящих в международные библиографические базы данных, и доложены на профильных научных конференциях. В диссертации отражен личный вклад автора в указанные публикации.

По актуальности, научной новизне, научно-практической значимости диссертация З.С. Червонцевой “Влияние вторичной структуры мРНК на экспрессию генов” является законченной научно-квалификационной работой и отвечает требованиям п. 9 “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор З.С. Червонцева заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 □ математическая биология, биоинформатика».

**На диссертацию поступило 3 отзыва на автореферат.**

**В отзыве на автореферат Тутукиной Марии Николаевны,** кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника Центра молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологии **дана высокая оценка работе, но указаны недочеты:**

1. Неоднозначна формулировка первого положения, выносимого на защиту – 5'-область гена можно трактовать и как кодирующую, и как не кодирующую, поэтому первый подпункт можно понять по-разному.
2. Было бы полезно кратко расшифровать, что за белок CER, использованный для изучения влияния вставок перед геном белка RFP (который тоже стоило бы расшифровать) на трансляцию.
3. На страницах 6-8 автореферата иногда флуо-, иногда флюоресценция, а *E. coli* не всегда написана курсивом.

**В отзыве на автореферат Вахрушевой Ольги Александровны,** кандидата биологических наук, младшего научного сотрудника Центра молекулярной и клеточной биологии Сколковского института науки и технологии **дана высокая оценка работе, но сделаны замечания:**

1. В изложении результатов главы 2 стоило бы коротко обсудить, не могут ли вставки в начале гена оказывать влияние не только на эффективность трансляции, но и на процесс транскрипции и/или изменять стабильность мРНК.
2. В тексте подписи к рисунку 7 отсутствует информация о том, как подбирали контрольные пары генов. Учитывали ли при проведении данного анализа возможные отличия в GC-составе между генами из изучаемой и контрольной выборок?
3. В тексте подписи к рисунку 10 не указано, для какого вида моллюсков было проведено предсказание структурированных участков мРНК, результаты которого использовали для построения данного графика.

Отзыв на автореферат **Бурской Валентины Олеговны,** научного сотрудника Университета Антверпена, PhD in Life Sciences (эквивалентно степени кандидата биологических наук) **дана высокая оценка работе, но высказано предложение:**



1. В главе 4 диссертации З.С. Червонцева исследует роль вторичной структуры в редактировании мРНК головоногих моллюсков: показано, что высокая структурированность повышает вероятность редактирования. Интересно, что повышенный уровень структурированности мРНК (так же, как и пониженный – в результатах главы 2) должен существенно влиять на режим синонимичной эволюции участка гена, окружающего подверженный редактированию сайт. Было бы также интересно проверить, оказывается ли редактирование аденина в начале гена головоногих моллюсков маловероятным из-за требования к пониженной структурированности мРНК в начале гена.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**впервые систематически** исследовано влияние случайных вставок в начале гена на эффективность инициации трансляции мРНК *Escherichia coli*. Показано, что выраженная вторичная структура и участки, схожие с последовательностью Шайна-Дальгарно, снижают эффективность трансляции. Показано, что, вопреки существующим представлениям, редкие кодоны в начале гена не оказывают влияния на эффективность трансляции. Показано, что в бедной среде кодоны аминокислот, синтез которых требует существенных энергетических затрат, уменьшают эффективность трансляции.

**Впервые** исследованы структурные факторы, влияющие на согласованную трансляцию генов эквимоллярных субъединиц белковых комплексов у *Escherichia coli*. Показано, что равная эффективность трансляции генов *Escherichia coli*, кодирующих эквимоллярные субъединицы белковых комплексов в составе одного оперона, обеспечивается, в том числе, близкой по стабильности структурированностью мРНК

**Впервые** исследовано влияние вторичной структуры на массовое, консервативное, скоординированное редактирование мРНК у мягкотелых головоногих моллюсков. Показано, что аденины в структурированных областях редактируются чаще, чем в неструктурированных; уровень редактирования увеличивается с уровнем структурированности; указанные эффекты сильнее проявляются, если редактирование консервативно;

вторичная структура способствует коррелированному редактированию сближенных аденинов.

**Теоретическая значимость исследования обоснована** тем, что оно вносит вклад в понимание влияния структурированности мРНК на экспрессию генов. Результаты, представленные в работе, объясняют ряд ранних наблюдений, в частности, корреляцию в редактировании далеких по последовательности аденинов, а также влияние последовательности и структуры начала гена на эффективность трансляции. Разработанные методы могут быть применены для исследования редактирования и трансляции в других организмах, а также анализа влияния других областей мРНК на эффективность трансляции.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** состоит в том, влияние структурированности и последовательности мРНК следует учитывать при дизайне гетерологичных систем экспрессии *Escherichia coli*. Разработанные подходы могут применяться и для других организмов.

**Достоверность результатов исследования** подтверждена экспериментальной проверкой полученных наблюдений о влиянии стартовой области гена на эффективность трансляции. Результаты исследования влияния структурированности на редактирование аденинов согласуются с первоначальными ранними наблюдениями и подтверждаются более поздними работами других исследователей.

**Личный вклад соискателя** состоит в непосредственном планировании исследований, участии в постановке задач, теоретической разработке и практической реализации подходов к анализу данных, обработке и анализе данных, а также в написании статей. Результаты, описанные в диссертации, получены автором самостоятельно (за исключением небольшого числа отмеченных в тексте диссертации случаев, когда для полноты изложения приводятся результаты, полученные соавторами публикаций). В диссертации решены задачи, имеющие значение для изучения влияния вторичной структуры на механизмы редактирования и трансляции мРНК. По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности «1.5.8. –математическая биология, биоинформатика».

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация Червонцевой Зои Сергеевны «Влияние вторичной структуры мРНК на экспрессию генов» представляет собой завершенное научное исследование. По актуальности, новизне, практической значимости диссертация соответствует требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

**На заседании 25 сентября 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Червонцевой Зое Сергеевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности «1.5.8.» – математическая биология, биоинформатика.**

При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 14 человек, входящих в состав совета, проголосовали за – «13», против – «0», недействительных бюллетеней – «1».

Председатель

диссертационного совета 24.1.001.01  
д.б.н., профессор



*Гельфанд* Гельфанд М.С.

Ученый секретарь

диссертационного совета 24.1.001.01  
д.б.н.

*Казенников* Казенников О.В.

25 сентября 2023 г.