

На правах рукописи

Шаманский Виктор Анатольевич

**Влияние нуклеотидных мотивов и структуры
митохондриального генома на образование делеций**

Специальность 1.5.8 —
«Математическая биология, биоинформатика»

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Калининград – 2025

Работа выполнена в Высшей школе живых систем Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»

Научный руководитель:

Гунбин Константин Владимирович
кандидат биологических наук

Консультант:

Попадин Константин Юрьевич
кандидат биологических наук

Официальные оппоненты:

Фенюк Борис Александрович
доктор биологических наук, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, заместитель директора по науке

Мария Николаевна Тутукина
кандидат биологических наук,
Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий», Центр био- и медицинских технологий, старший научный сотрудник

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Защита состоится 9 февраля 2026 г. в 15.00 на заседании диссертационного совета 24.1.101.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук (ИППИ РАН) по адресу: 127051, г. Москва, Большой Каретный переулок, д.19 стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИППИ РАН, а также на сайте ИППИ РАН по адресу: <http://iitp.ru/upload/content/1743/ShVA%20dissert.pdf>

Автореферат разослан «___» декабря 2025 года.

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.101.01, доктор физико-математических наук

Казенников Олег Васильевич

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования

Митохондрии играют важную роль в метаболизме клетки, а также участвуют в регуляции клеточного цикла и запрограммированной клеточной гибели. Несмотря на то, что размер мтДНК ничтожен по сравнению с ядерным геномом и в нем закодировано всего чуть больше десятка белков из всего необходимого ансамбля - любое нарушение в столь оптимизированной макромолекуле может сделать ее слабым звеном, лимитирующим работу всей системы.

Митохондриальный геном (мтДНК), существующий внутри клетки в большом количестве копий, сильно предрасположен к накоплению возрастных повреждений из-за постоянного обновления (Poovathingal, Gruber, Lakshmanan, Halliwell, & Gunawan, 2012) и высокой частоты мутаций (Rebolledo-Jaramillo et al., 2014). Существование разных вариантов мтДНК внутри одной клетки (гетероплазмия) (Wilton, Zaidi, Makova, & Nielsen, 2018) приводит к внутриклеточной конкуренции мтДНК. Одним из наиболее изученных примеров эгоистичных мутаций мтДНК являются делеции - удаление части митохондриального генома. Имеется связь накопления масштабных соматических митохондриальных делеций как с процессом старения, так и с возрастными митохондриальными энцефаломиопатиями (Bender et al., 2006; Kraytsberg et al., 2006; Herbst et al., 2007, 2016).

Митохондриальная ДНК (мтДНК) во многом является особенной, в том числе по своей структуре и процессу репликации. Основной причиной делеций долгое время считались прямые повторы (Samuels, Schon, & Chinnery, 2004), (Guo et al., 2010), но есть основания полагать что они лишь часть более сложного механизма в который вовлечены и другие повторяющиеся элементы и мотивы, которые взаимодействуя друг с другом могут приводить к делециям и другим мутациям. Поэтому изучение влияния нуклеотидных мотивов и структуры митохондриального генома на образование делеций имеет важное значение для понимания механизмов возникновения многих заболеваний, связанных с нарушениями в функционировании митохондрий. Также мое исследование может дать возможность разработки высокоеффективных методов диагностики и лечения заболеваний, связанных с мутациями мтДНК.

Степень разработанности темы

Существует довольно много исследований, посвященных влиянию нуклеотидных мотивов и структуры митохондриального генома на различные процессы, включая образование делеций и продолжительность жизни.

Было показано, что большинство соматических делеций мтДНК фланкированы прямыми нуклеотидными повторами (Samuels et al., 2004) или длинными несовершенными дуплексами, состоящими из коротких участков прямых повторов (Guo et al., 2010) и было выдвинуто несколько гипотез, объясняющих образование делеций с участием прямого повтора. Также была выдвинута гипотеза, что основным фактором, ответственным за образование большинства делеций является совершенный прямой повтор - два идентичных нуклеотидных мотива (плеча) длиной 13 пар оснований, наблюдаемых в мтДНК большинства людей (так называемый «общий повтор») (Samuels et al., 2004). В то же время известны гаплогруппы (Alexe et al., 2007; Bilal et al., 2008) у которых общий повтор нарушен (когда одно из плеч повтора утрачивает идентичность другому за счет новой мутации) и детальное изучение таких гаплогрупп может пролить свет на механизм образования делеций. Поскольку прямые повторы предрасполагают мтДНК к соматическим делециям, они считаются примером аллелей «вредных в позднем возрасте» (DILL): нейтральных или слегка вредных в

репродуктивном возрасте, но вредных в позднем возрасте (Cortopassi, 2002). Была выявлена сильная отрицательная корреляция между количеством (а также мутагенным потенциалом) прямых повторов в mtДНК и видоспецифической продолжительностью жизни млекопитающих (Khaidakov, Siegel, & Shmookler Reis, 2006; Samuels, 2004), что интерпретируется как дополнительное свидетельство вредного воздействия повторов в mtДНК долгоживущих млекопитающих.

Однако существует множество вопросов которые до сих пор остаются неотвеченными: Играют ли повторы главную роль в образовании делеций? Существует ли отбор против повторов? Как влияет нуклеотидный состав повторов на их силу в образовании делеций? Каким образом повторы могут взаимодействовать друг с другом? Какие структуры имеет mtДНК и какие конформации принимает во время репликации в контексте образования делеций?

Детальное изучение распределения делеций mtДНК ставит под сомнение абсолютную роль повтора длиной 13 п.н. и других идеальных повторов в возникновении делеций mtДНК. Делеции, по-видимому, зависят от длинных и стабильных, хотя и несовершенных, дуплексов между удаленными сегментами mtДНК. Более того, значительные различия в распределении точек разрыва (breakpoints) позволяют предположить, что в создании делеций mtДНК участвуют несколько механизмов. Так же было обнаружено, что инвертированные повторы имеют еще более сильную отрицательную корреляцию с продолжительностью жизни млекопитающих.

Очевидно что изучение этой темы еще далеко от полного понимания. Всё что у нас есть на данный момент это корреляции с различными типами мотивов и структур, но механизмы их влияния нам не известны. Исходя из этого очевидно, что необходимы дальнейшие исследования в данной области, так как они могут иметь большую значимость для биологии и медицины.

Расширения моей работы были размещены в системе предварительного ознакомления bioRxiv:

- Shamanskiy et al., Mitochondrial direct repeat reduction as a strategy for enhancing human longevity: the case of the common repeat, bioRxiv, doi: <https://doi.org/10.1101/2024.09.02.610808>
- Mikhailova A.G. et al., Mammalian mitochondrial mutational spectrum as a hallmark of cellular and organismal aging, doi: <https://doi.org/10.1101/589168>
- Mikhailova A.G. et al., A mitochondrial mutational signature of temperature in ectothermic and endothermic vertebrates, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.07.25.221184>;
- Mikhailova A.A. et al., Deleterious in late life mitochondrial alleles and aging: secrets of Japanese centenarians, doi: <https://doi.org/10.1101/603282>

Цели и задачи исследования

Объект исследования: митохондриальный геном в целом и митохондриальный геном человека, млекопитающих и других позвоночных в частности.

Предмет исследования: влияние нуклеотидных мотивов и структуры митохондриального генома на образование делеций.

Цель исследования: разработка и применение инновационного биоинформационического инструментария для комплексного анализа нуклеотидных мотивов (таких как несовершенные повторы) и структуры митохондриального генома с целью выявления универсальных закономерностей их организации, установления их роли в мутагенезе (образовании делеций) и определения связи их характеристик с

эволюционными и фенотипическими признаками (такими как продолжительность жизни).

Задачи исследования:

1. Разработать и верифицировать оригинальный алгоритм для детекции и классификации всех типов несовершенных повторов (прямых, инвертированных, зеркальных, комплементарных) в кольцевых геномах, адаптированный к специфике мтДНК.
2. Создать и развернуть общедоступную базу данных повторов мтДНК для репрезентативной выборки позвоночных (>3500 видов), оснащенную инструментами для визуализации, сравнительного анализа и экспорта данных.
3. Провести масштабный сравнительный анализ и выявить универсальные закономерности в организации повторяющихся элементов мтДНК (длина, нуклеотидный состав, распределение, ассоциация с функциональными областями).
4. Экспериментально (in silico) протестировать роль пространственной структуры одноцепочечной мтДНК в обеспечении пространственной близости участков разрыва и образовании делеций; предложить структурную модель, объясняющую локализацию "горячих точек" делеций.
5. Исследовать мутагенный потенциал различных комбинаций повторов (в частности, паттернов DI...ID) и других нуклеотидных мотивов и оценить их вклад в возникновение соматических делеций, ассоциированных с возраст-зависимыми заболеваниями и выявить места наибольшей склонности к образованию делеций.
6. Установить корреляцию между характеристиками повторов и продолжительностью жизни на межвидовом уровне (млекопитающие) и на уровне человеческих гаплогрупп, проверив гипотезу об очищающем отборе.
7. Определить относительный вклад мутационного давления и отбора в формирование мутационного спектра мтДНК (на примере замен A>G), оценив влияние времени нахождения в одноцепочечном состоянии и окислительного повреждения.

Научная новизна

Разработан передовой алгоритм поиска вырожденных повторов в мтДНК с учетом ее кольцевой структуры. Алгоритм превосходит аналоги по универсальности, способности оперировать вырожденными повторами, а также отсутствию ограничений по длине протяженных гомологичных участков. С его помощью на тысячах геномов показано, что спектр делеций не объясняется одними лишь прямыми повторами, и обоснована новая гипотеза о существовании контактной зоны, играющей большую роль в механизме образования делеций в одноцепочечной мтДНК. Также изучена эволюция общего прямого повтора и смоделировано взаимодействие разных типов повторов. Результаты моей работы раскрывают структурные механизмы делеций в мтДНК и открывают новые возможности для изучения и лечения митохондриальных заболеваний.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы:

- Исследование вносит вклад в понимание фундаментальных механизмов образования делеций в мтДНК, что напрямую связано с изучением причин старения.

- Разработана и обоснована новая гипотеза, объясняющая неоднородность спектра делеций через существование макромолекулярной контактной зоны, что является шагом к полному раскрытию механизма их возникновения.
- Работа закладывает основу для эволюционного анализа: изучения того, как набор повторов и структурные особенности mtДНК меняются у разных видов, тем самым вносит вклад в эволюционную биологию.

Практическая значимость работы:

- В ближайшей перспективе результаты открывают путь к созданию методов персонализированной диагностики, позволяя прогнозировать риски митохондриальных заболеваний через выявление конкретных нуклеотидных мотивов предрасполагающих к делециям, а также создают основу для новых стратегий терапии, таких как генное редактирование «хрупких» участков mtДНК.
- Для отдаленного будущего исследование закладывает фундамент для разработки методов, направленных на увеличение продолжительности здоровой жизни человеческой популяции.

Таким образом, моя диссертация представляет собой важный шаг в митохондриальной генетике, объединяющий фундаментальные исследования с прямыми перспективами применения в биологии и медицине.

Методология и методы исследования

Материалом исследования служат митохондриальные геномы различных организмов с различной структурой и расположением нуклеотидных мотивов. Моя работа основана на биоинформационическом анализе последовательностей митохондриальных геномов позвоночных, в частности современных гаплогрупп человека, первобытных людей, других гоминидов и млекопитающих. В работе рассматриваются нуклеотидные мотивы и структуры, которые могут вызывать образование делеций, и анализируется их распределение в геноме. Особое внимание уделяется роли структурных особенностей ДНК, таких как повторы, при образовании делеций. Методология исследования основана на комплексном биоинформационическом анализе, включающем компьютерное моделирование мутаций (*in silico*), сравнительный анализ митохондриальных геномов различных видов и гаплогрупп, разработку инструментов предсказания вторичной структуры mtДНК, а также статистический анализ взаимосвязей между структурными характеристиками mtДНК и точками разрыва делеций. В рамках работы решаются три основные задачи: анализ распределения делеций в mtДНК человека, изучение гомологии участков mtДНК и исследование мутационного спектра, приводящего к структурным изменениям митохондриального генома.

Основные положения, выносимые на защиту

- 1) Разработан и апробирован инновационный методологический инструментарий для анализа повторов mtДНК
- 2) Установлены универсальные закономерности организации повторов в mtДНК
- 3) Раскрыта ключевая роль пространственной структуры mtДНК в образовании делеций
- 4) Подтверждена связь между повторами mtДНК и продолжительностью жизни на определенных гаплогруппах

- 5) Предложены мутагенные механизмы, опосредованные повторами
- 6) Установлены детерминанты мутационного спектра mtДНК

Степень достоверности и апробация результатов

Исследования которые были проведены в рамках моей диссертации "Влияние нуклеотидных мотивов и структуры митохондриального генома на образование делеций" прошли следующие этапы апробации:

1. Результаты исследований представлены в 3 научных публикациях в ведущих научных журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science;

2. Были получены 2 авторских свидетельства: на разработанный алгоритм и на базу данных;

3. По результатам исследования сделаны устные и постерные доклады на научных конференциях: международная конференция Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology - 2018, Новосибирск, Август 2018; международная конференция Systems Biology and Bioinformatics – 2018, Новосибирск, Август 2018; международная конференция The Society for Molecular Biology & Evolution conference - 2019, Манчестер (Великобритания), Июль 2019; международная конференция "VII International Conference of Young Scientists: Biophysicists, Biotechnologists, Molecular Biologists and Virologists, Новосибирск, Октябрь 2020; всероссийская конференция XXVII International Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists "Lomonosov", Москва, Ноябрь 2020; международная конференция The Society for Molecular Biology & Evolution conference - 2021, Июль 2021; летняя школа School of Bioinformatics - 2021 (Institute of Bioinformatics), Санкт-Петербург, Июль 2021; международная конференция Moscow Conference on Computational Molecular Biology, Москва, Июль 2021; международная конференция The European Human Genetics Conference, Август 2021; форум молодых исследователей ХимБиоСезоны 2023, Калининград, Апрель 2023; международная конференция The Society for Molecular Biology & Evolution conference, Июль 2023; всероссийская конференция Moscow Conference on Computational Molecular Biology, Москва, Август 2023; международная конференция "X International Conference of Young Scientists: Biophysicists, Biotechnologists, Molecular Biologists and Virologists, Новосибирск, Сентябрь 2023; всероссийская конференция Moscow Conference on Computational Molecular Biology, Москва, Август 2025; международная научная конференция "LIFE SCIENCES TODAY 2025" Астана (Казахстан), Сентябрь 2025 г.

Личный вклад. В роли соискателя по диссертации "Влияние нуклеотидных мотивов и структуры митохондриального генома на образование делеций" мной был внесен следующий вклад:

- Активное участие в сборе и анализе данных митохондриальных геномов и других данных из различных электронных источников.
- Разработка программного обеспечения.
- Изучение и анализ специфических нуклеотидных мотивов, которые могут иметь влияние на образование делеций в митохондриальном геноме.
- Оценка структуры митохондриального генома и ее влияния на образование делеций.
- Создание и участие в создании моделей для моделирования образования делеций с помощью компьютерных программ.
- Анализ полученных результатов и оценка их влияния на дальнейшие исследования в области митохондриальной генетики и геномики.
- Подготовка материалов к публикации и участие в написании статей.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 119 страницах и включает следующие разделы: «Введение», «Глава 1. Обзор литературы», «Глава 2. ImtRDB: база данных и программное обеспечение для аннотации митохондриальных несовершенных вкрапленных повторов», «Глава 3. Влияние вторичной структуры митохондриального генома человека на образование делеций», «Глава 4. Влияние нарушенного общего повтора на здоровое старение на примере гаплогрупп японских долгожителей», «Глава 5. Взаимодействие прямых и инвертированных повторов при образовании делеции», «Глава 6. Митохондриально-специфический мутационный признак старения: повышенная частота замен A > G в тяжелой цепи» «Заключение», «Список сокращений и условных обозначений», «Словарь терминов», «Список литературы», «Приложения». Работа содержит 23 рисунков и 9 таблиц. Список литературы включает 209 литературных источников.

Содержание работы

Введение

В данном подразделе описана актуальность выбора темы диссертации, предмет исследования, цель и задачи работы, специфика работы, основные вопросы, гипотезы, научная и практическая значимость. Старение связано с нарушением работы митохондрий, производящих клеточную энергию (АТФ), что часто обусловлено делециями в митохондриальной ДНК (мтДНК), ведущими к дегенерации мышц и мозга. Особую роль в этом процессе играет гетероплазмия (существование разных вариантов мтДНК) и особенности репликации генома. Одним из наиболее изученных примеров эгоистичных мутаций мтДНК связанных со старением являются делеции – удаление части митохондриального генома. До сих пор нет какой-либо общепризнанной гипотезы, почему именно образуются делеции в митохондриальном геноме и является ли это нормой во время старения, но определено существует связь делеций с нуклеотидными повторами и нахождением части мтДНК в одноцепочечном состоянии во время репликации. При этом исследования показывают, что определенные мутации, нарушающие структуру «общего повтора» мтДНК (например, m.8473T>C), могут, парадоксальным образом, способствовать увеличению продолжительности жизни и снижению риска возрастных заболеваний, хотя связь между архитектурой мтДНК и долголетием в целом требует дальнейшего изучения.

Глава 1. Обзор литературы

В данной главе рассматривается влияние нуклеотидных мотивов и структуры митохондриального генома на образование делеций, что является ключевым фактором в процессе старения, связанного с накоплением повреждений мтДНК (Poovathingal et al., 2012). Накопление соматических делеций в медленно делящихся тканях, включая ооциты, ведет к возрастным патологиям, таким как нейродегенерация и саркопения (Bender et al., 2006; Kraytsberg et al., 2006; Herbst et al., 2007; Barritt, Brenner, Cohen, & Matt, 1999; Chan et al., 2005). Хотя гипотеза о причинной роли делеций в старении поддерживается рядом исследований (Trifunovic et al., 2004; Vermulst et al., 2008), другие данные ставят под сомнение их вклад в нормальное старение (Khrapko & Vijg, 2007). Основным механизмом образования делеций считается наличие прямых повторов, в частности, «общего повтора» длиной 13 п.н., который фланкирует большинство соматических делеций (Samuels et al., 2004; Guo et al., 2010; Phillips et al., 2017). Нарушение этого повтора в некоторых гаплогруппах, ассоциированных с долголетием (Bilal et al., 2008; Alexe et al., 2007), и данные о том, что делеции могут

зависеть от длинных несовершенных дуплексов (Guo et al., 2010), указывают на сложность процесса образования делеций в мтДНК. Подтверждением этому служит обнаружение сотен тысяч уникальных делеций (Lujan et al., 2020). Существует отрицательная корреляция между количеством и мутагенным потенциалом прямых и инвертированных повторов в мтДНК и продолжительностью жизни млекопитающих (Khaidakov et al., 2006; Samuels, 2004; Yang, Seluanov, & Gorbunova, 2013). Для изучения структурных основ мутагенеза применяются методы прогнозирования вторичной и трехмерной структуры нуклеиновых кислот (Zuker, 2003; Lorenz et al., 2011; Zhang, Xiong, & Xiao, 2022), включая анализ неканонических форм ДНК (Pina, Sousa, Azevedo, & Carneiro, 2022), а также специализированные базы данных границ делеций, такие как MitoBreak (Damas, Carneiro, Amorim, & Pereira, 2014). Таким образом, несмотря на значительный прогресс, в данной области отсутствует консенсус, и для понимания механизмов образования делеций требуются дальнейшие исследования с использованием современных биоинформационических и молекулярных подходов.

Глава 2. ImtRDB: база данных и программное обеспечение для аннотации митохондриальных несовершенных вкрапленных повторов.

Глава описывает полученные результаты работы разработанного мной алгоритма поиска вырожденных повторов и изучению влияния различных видов повторов на формирование делеций митохондриального генома. Я изучил большое количество существующих программных продуктов поиска повторов и большинство из них обладало недостатками. После тщательного отбора мной были выбраны наиболее соответствующие задаче программы. Мной был разработан собственный алгоритм который позволяет находить как совершенные, так и несовершенные повторы четырех основных типов: прямые, инвертированные, зеркальные и комплементарные (Рис. 1). Я не рассматривал в своем анализе короткие tandemные повторы или микросателлиты, поскольку они требуют других подходов и существует несколько баз данных и программных инструментов для обнаружения и аннотирования микросателлитов, связанных с различными заболеваниями, включая рак человека.



Рисунок 1. Четыре типа перемежающихся повторов. Цвета обозначают повторяющийся нуклеотидный рисунок, стрелки указывают направление рисунка

Также мной проведен статистический анализ повторов по физико-химическим характеристикам и содержанию. Мной использован метод изучения распределения повторяющихся последовательностей ДНК в митохондриальных геномах. Рассчитано положение средней точки для каждой повторяющейся последовательности и каждой средней точке присвоены различные физико-химические характеристики. Затем сопоставлено количество повторов в средних точках со средними физико-химическими характеристиками, присвоенными каждой средней точке, чтобы проанализировать распределение повторов в митохондриальных геномах (Рис. 2).

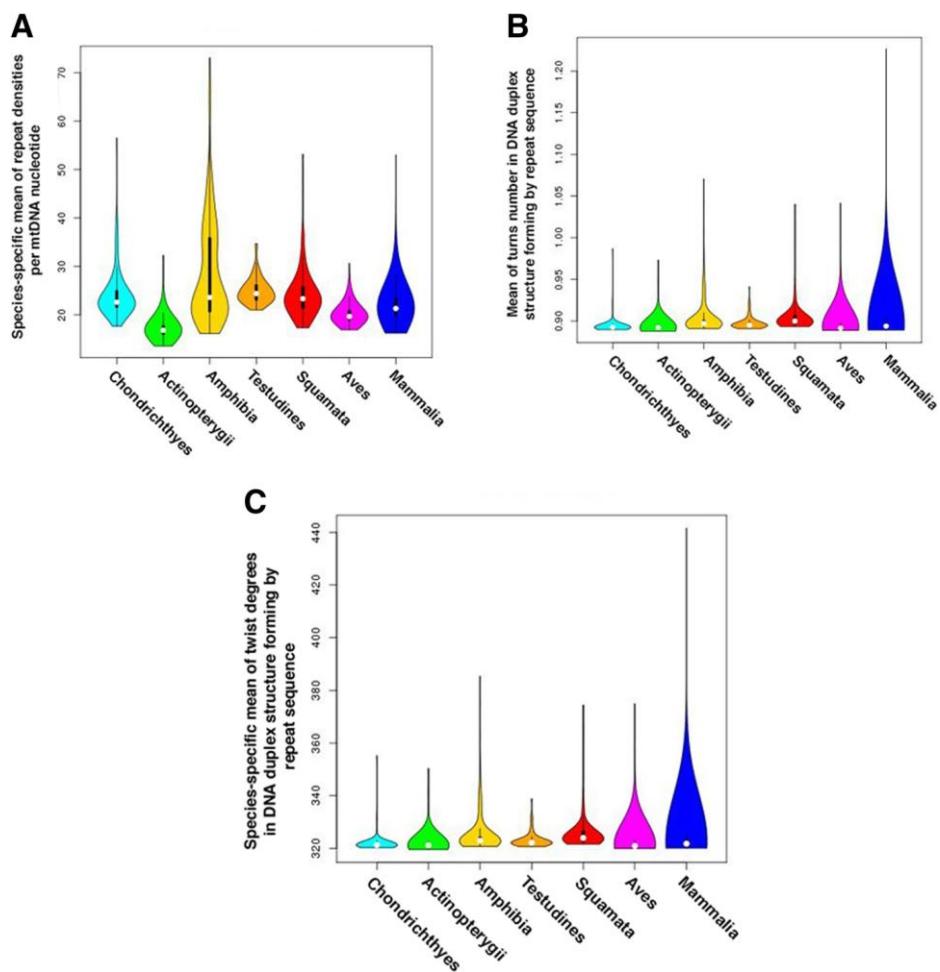


Рисунок 2. Плотность повторов, характерная для таксонов, и характеристики длины повторов.

А – видоспецифическое среднее значение плотностей повторов на нуклеотид мтДНК;

В – видоспецифическое среднее число витков в структуре дуплекса В-ДНК, образующейся повторяющейся последовательностью; С – видоспецифическое среднее значение степеней изгиба в структуре дуплексной ДНК, формируемой повторяющейся последовательностью.

Большинство таксонов имеют в среднем 18-28 коротких несовершенных повторов на каждый нуклеотид мтДНК, длина которых составляет около 10-12 нуклеотидов (эквивалентно одному неполному витку спирали ДНК), что указывает на обогащение митохондриальных повторов развернутыми структурами ДНК. При этом обнаружена сильная корреляция между обилием прямых и зеркальных повторов, а также обилием инвертированных и комплементарных повторов, что, вероятно, объясняется сходством их нуклеотидного состава. Преобладание несовершенных повторов позволяет предположить, что идеальные повторы могут подвергаться отрицательному отбору (что согласуется с предыдущими исследованиями), делающему их менее распространенными. Кроме того, выявлена статистически значимая отрицательная корреляция между общим обилием повторов и содержанием GC, особенно сильная для инвертированных и комплементарных повторов, что может указывать на более интенсивный негативный отбор против богатых GC повторов этих типов, хотя для подтверждения данной гипотезы требуется дальнейший анализ.

Глава 3. Влияние вторичной структуры митохондриального генома человека на образование делеций

Третья глава посвящена изучению влияния на образование делеций структурных факторов, таких как микроморфология и положение участков mtДНК относительно друг друга во время репликации. Гипотеза второго исследования заключалась в том, что то как устроена вторичная структура митохондриального генома, в частности mtДНК человека, влияет на риск появления в нем делеций. Объектом исследования стала главная дуга (major arc) - участок митохондриального генома который из-за особенностей копирования ДНК чаще бывает в одноцепочечном состоянии (в норме ДНК двухцепочечная и скручена, но во время копирования она на какое-то время раскручивается и становится одноцепочечной). Проанализированы данные о более чем 1300 делециях из открытой базы данных MitoBreak и обнаружили, что такие мутации распределены в геноме не равномерно, а концентрируются в определенном участке - 6-9 и 13-16 т.п.н., которому было дано название «контактная зона» (Рис. 3А, пунктирными линиями обозначены кластеры делеций).

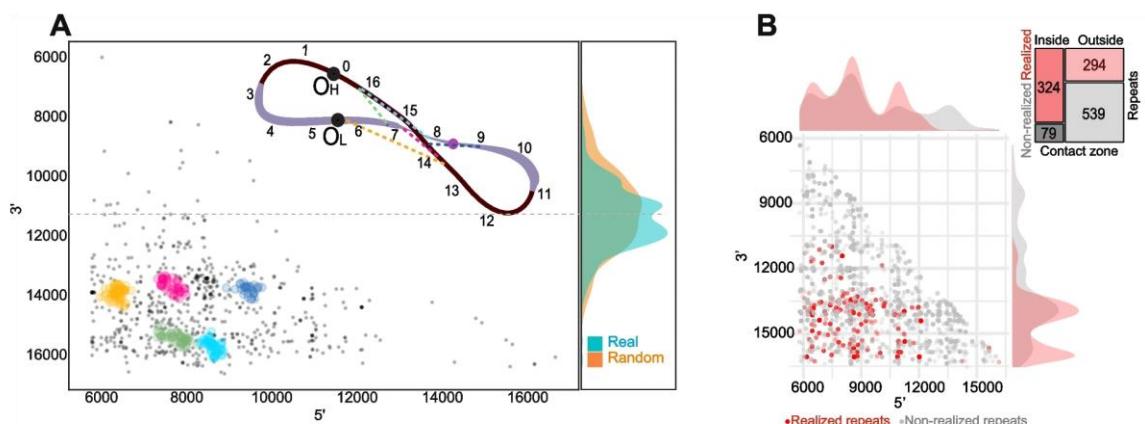


Рисунок 3. Вторичная структура mtДНК. А. Кластеры делеций внутри большой дуги. Большинство кластеров расположены близко друг к другу в пределах потенциальной зоны контакта. Цвета на схеме сверху соответствуют кластерам. Вертикальные графики плотности в правой части рисунка демонстрируют распределение центров делеций: реальные (наблюдаемые) и случайные (ожидаемые). В. Реализованные (красные) и нереализованные (серые) повторы, как правило, обогащаются в потенциальной зоне контакта. Мозаичный график повторов (реализованные и нереализованные) внутри и снаружи потенциальной зоны контакта.

Были изучены регионы где происходят делеции, и обнаружено, что в некоторых областях mtДНК с большей вероятностью возникают делеции, чем в других, потому что они обрамлены прямыми нуклеотидными повторами. В то же время далеко не все повторы приводят к делециям (Рис. 3В). Возможно что когда две насыщенные разнообразными повторяющимися участками области соприкасаются друг с другом во время репликации - образуется «контактная зона», горячая точка в которой делеции более распространены, даже если поблизости нет прямых повторов. В моем исследовании предложена гипотеза о том, что mtДНК во время репликации может напоминать по форме «символ бесконечности» с «контактной зоной» между двумя ее участками (на Рис. 3А предложена схема). Это говорит о том, что двухцепочечная mtДНК может быть свернута в крупномасштабную петлю, подобно одноцепочечной mtДНК. Эти результаты важны для понимания того, как делеции в mtДНК происходят во время репликации, и могут помочь исследователям разработать методы лечения заболеваний, вызванных этими мутациями.

Глава 4. Влияние нарушенного общего повтора на здоровое старение на примере гаплогрупп японских долгожителей

В четвертой главе обсуждается вероятное влияние нарушенного общего повтора на здоровое старение на примере гаплогрупп японских долгожителей. В данном исследовании рассматриваются конкретные изменения в общем повторе, наблюдаемые у некоторых людей. Исследование было основано на коллекции из 43437 образцов человеческой mtДНК. Для каждого генома была определена гаплогруппа и произведено разделение на кейсы (с нарушенным общим повтором) и контроли (повтор не нарушен). Общее филогенетическое дерево mtДНК человека было разделено на фрагменты, соответствующие гаплогруппам mtДНК (Таб. 1).

Таблица 1. Список вариантов, нарушающих проксимальное плечо общего повтора и соответствующих гаплогрупп, в базе данных HmtDB более 20 случаев (43437 mtДНК).

Последовательность проксимального плеча общего повтора (8470–8482 п.н.)	Гаплогруппы	Количество особей
совершенный прямой повтор: ACCTCCCTCACCA	большинство гаплогрупп, предковое состояние и RefSeq	42641
m.8473T>C; ACCcCCCTCACCA; синоним	D4a (89), R2 (68), U2e (65), H1c (56), U6a (42) и спорадические случаи в других гаплогруппах (79)	399
m.8472C>T; ACtTCCCTCACCA; Про>Лей	N1b (106) и спорадические случаи в других гаплогруппах (38)	144
m.8479A>G; ACCTCCCTgCCA; синоним	D5a (57) и спорадические случаи вдругие гаплогруппы (3)	60
m.8470A>G; gCCTCCCTCACCA; синоним	Рассредоточенные спорадические случаи в различных гаплогруппах (32)	32
m.8478C>T; ACCTCCCTtACCA; Сер>Лей	L4b (18) и спорадические случаи в других гаплогруппах (12)	30
m.8477T>C; ACCTCCCCCACCA; Сер>Про	Рассредоточенные спорадические случаи в различных гаплогруппах (26)	26

Самой распространенной заменой разбивающей общий прямой повтор является мутация m.8473T>C. Наиболее изученная и наиболее секвенированная гаплогруппа этого варианта - D4a, японская гаплогруппа которая хорошо известна благодаря значительному относительному избытку долгожителей (лиц, живущих 100 и более лет) и сверхдолгожителей (лиц, живущих 110 и более лет) (Bilal et al. 2008; Alexe et al. 2007). В моей работе было сделано предположение, что на данную гаплогруппу благотворно влияет нарушение общего повтора заменой m.8473T>C, тем самым выдвигается гипотеза о том, что разбитый прямой повтор приводит к пониженной вероятности образования делеций (Рис. 4), что косвенно может понижать тотальную скорость молекулярной эволюции.

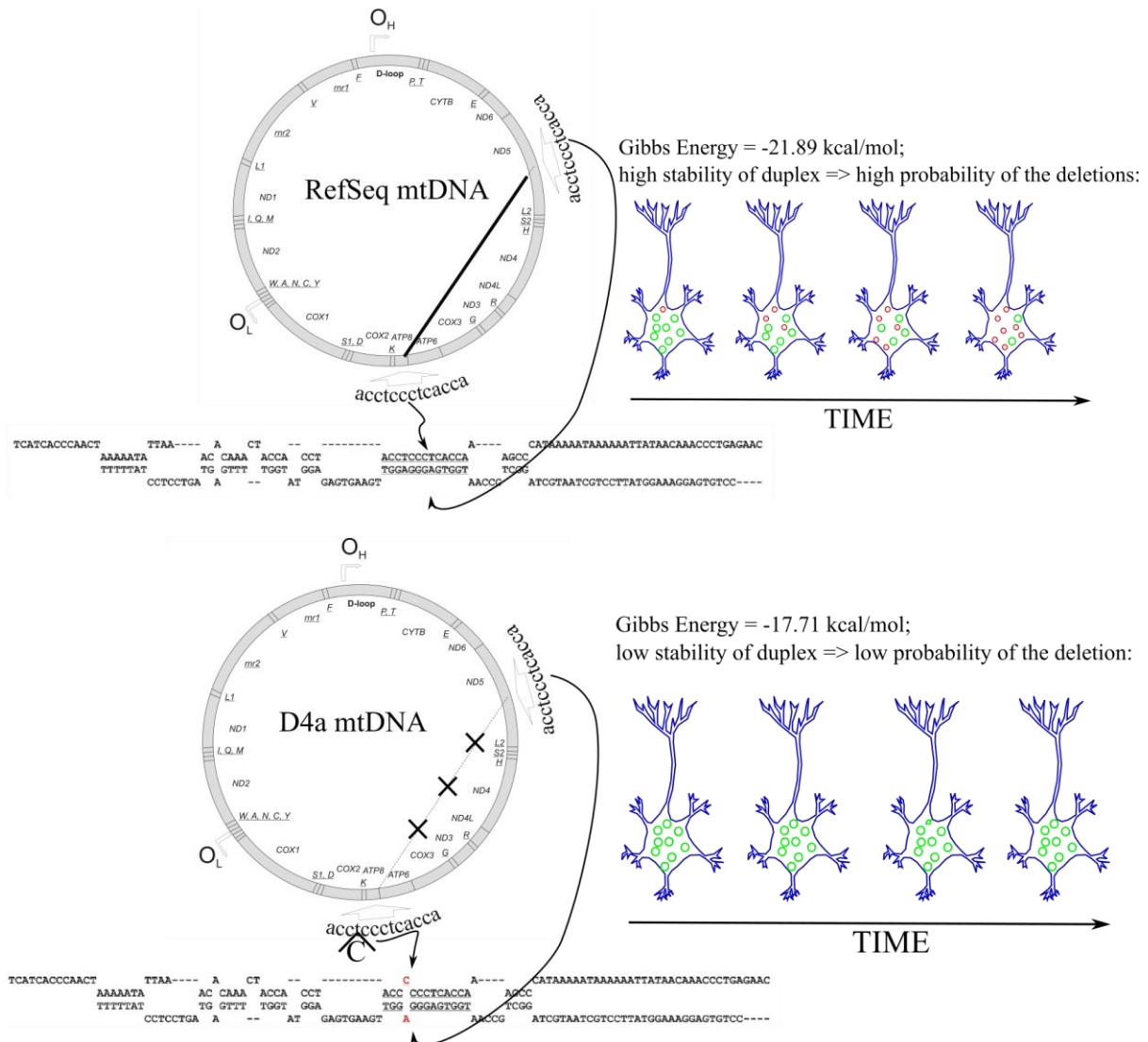


Рисунок 4. Рабочая гипотеза: нарушенный общий повтор препятствует возникновению соматических делеций mtДНК, поддерживая постмитотические клетки (нейроны и скелетно-мышечные клетки) в более здоровых условиях (зеленые круги — дикий тип mtДНК; красные маленькие круги — mtДНК с общей делецией), тем самым откладывая возрастные фенотипы.

Чтобы сравнить интенсивность эволюции митохондриальных геномов, содержащих основной вариант нарушенного общего повтора с геномами имеющими интактными оба плеча общего повтора - сравнивались скорости эволюции сестринских клад содержащих и не содержащих мутацию в общем повторе. Анализ был сосредоточен на пяти гаплогруппах, отмеченных заменой m8473T>C: D4a, R2, U2e, H1c, U6a (Таб. 1). Результаты анализа показали значительные отличия (в сторону уменьшения) в скорости эволюции mtДНК у гаплогруппы японских долгожителей D4a (Рис. 5).

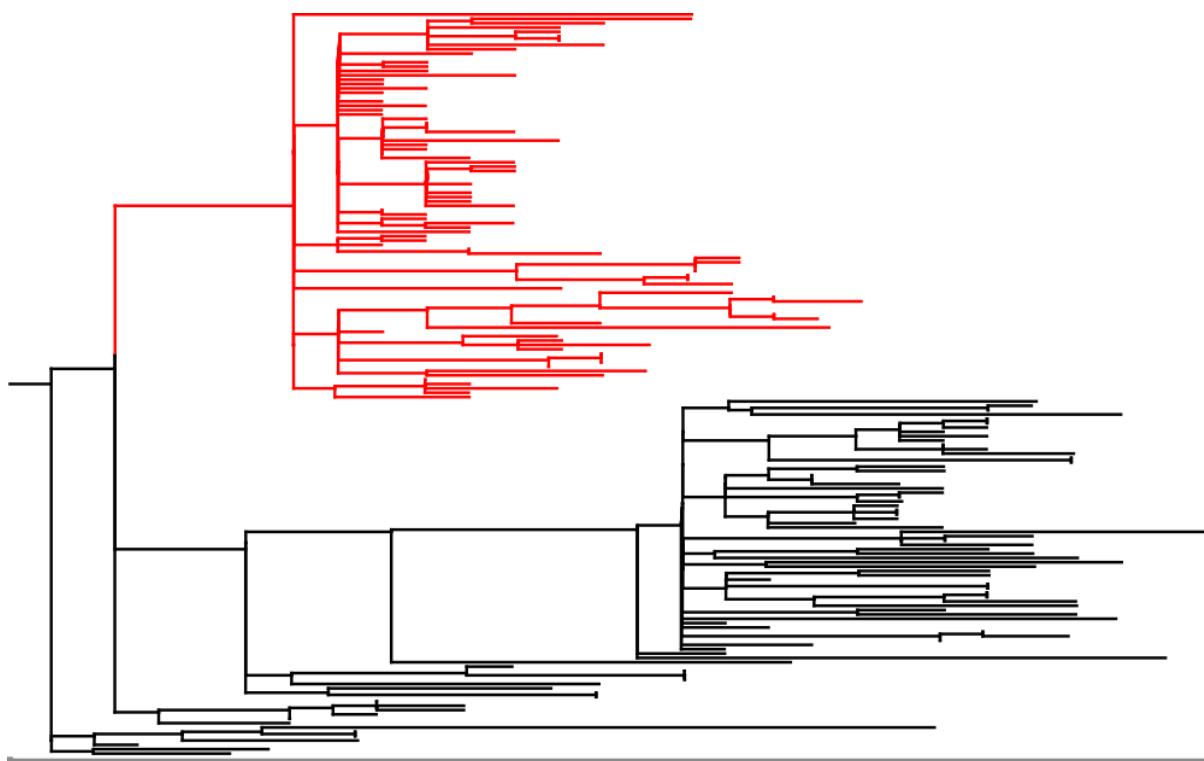


Рисунок 5. Сегмент филогенетического дерева человеческой мтДНК соответствующий гаплогруппе D4. Красные ветви - субклада D4a, черные - другие субклады D4.

Глава 5. Взаимодействие прямых и инвертированных повторов при образовании делеции

В пятой главе обсуждается возможное взаимодействие прямых и инвертированных повторов при образовании делеций. В моем исследовании было сделано предположение о том, что помимо прямых повторов, инвертированные повторы также могут играть важную роль в структурировании мтДНК за счет формирования вторичных структур - шпилек, которые во-первых, приводят к паузе в репликации, и во-вторых, сокращают эффективное расстояние между плечами прямого повтора, позволяя репликационной машине прыгнуть с первого плеча на второе. Используя коллекцию делеций мтДНК человека, а также глобальные и локальные свойства мтДНК (распределение прямых и инвертированных повторов), пересматриваются риски соматических делеций мтДНК. Полученные результаты указывают на механизм проскальзывания репликации, при котором вложенный паттерн прямых и инвертированных повторов (далее DIID: прямой инвертированный инвертированный прямой, Рис. 6) может привести к образованию делеций (Albertini, Hofer, Calos, & Miller, 1982; Persson et al., 2019).

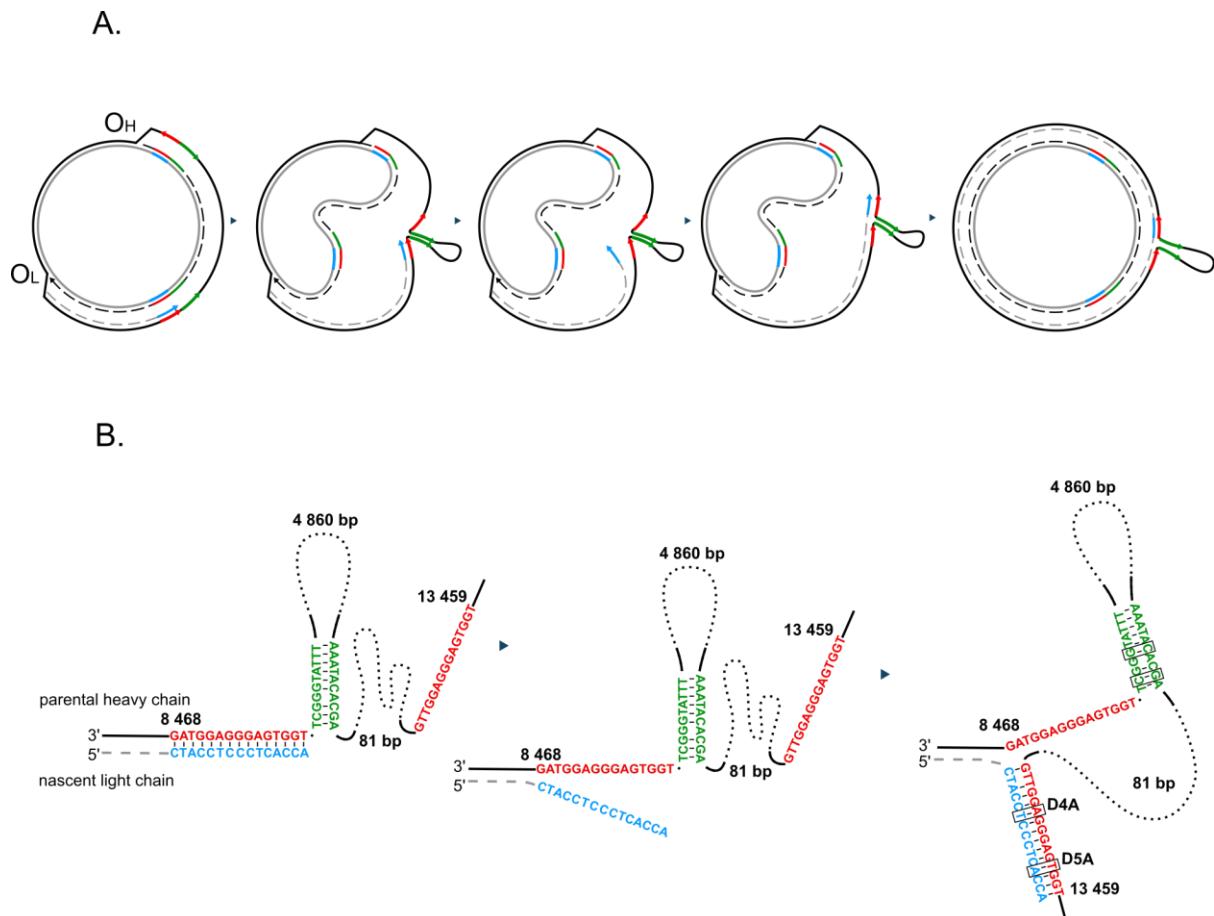


Рисунок 6. Прокальзывание репликации может объяснить образование общей делеции mtДНК, где вложенные инвертированные (зеленые) и прямые (красные) повторы играют решающую роль во время репликации отстающей (родительской тяжелой цепи) цепи. **А.** Основные этапы образования делеции. Первое: согласно асимметричной репликации mtДНК отстающая цепь (сплошная черная линия) провела значительное количество времени в одноцепочечном состоянии. Второе: одноцепочечная родительская тяжелая цепь образует вторичную структуру, сформированную инвертированными повторами. Этот стебель может останавливать репликационную вилку. Третье: остановка репликации приводит к частичной диссоциации недавно синтезированного проксимального плеча прямого повтора (синяя стрелка). Четвертое: диссоциированная цепь перестраивается на ближайшее дистальное плечо прямого повтора. Пятое: репликация похожа, но вновь синтезированная легкая цепь (пунктирная серая линия) имеет делецию - удалены как инвертированные повторы, так и ДНК между ними, а также проксимальное плечо прямого повтора; **Б.** Общий повтор (красный) имеет вложенный инвертированный повтор (зеленый), что может объяснить высокую изменчивость общего повтора. Цветовые коды совпадают с рис. 6А. Первое: синтез зарождающейся легкой цепи (синий) и остановка репликации около стебля, образованного инвертированным повтором. Второе: частичная диссоциация зарождающегося проксимального плеча общего повтора. Третье: перестройка вновь синтезированного проксимального плеча общего повтора с дистальным плечом общего повтора и продолжение репликации. Наиболее частые полиморфизмы (со 100 или более mtДНК из HmtDB), нарушающие эти повторы, отмечены в правой части рисунка. Эти замены могут существенно замедлить процесс образования делеции. Распространенный повтор здесь расширен от классического идеального повтора длиной 13 п.н. (ACCTCCCTCACCA) до деградированного повтора длиной 15 п.н. с одним несовпадением (CtACCTCCCTCACCA).

Выдвинутая гипотеза подтверждается несколькими экспериментами других авторов. Первый эксперимент был проведен на mtДНК *Nematomorpha*, которая имеет высокий уровень совершенных инвертированных повторов значительной длины (Mikhailov et al., 2019). Исследование показало, что инвертированные повторы могут образовывать шпильки и влиять на репликацию ДНК в ПЦР (полимеразной цепной реакции). Так же было показано, что паттерн DIID исчез во время ПЦР.

Предположительно, что более короткие продукты (мтДНК с делецией), вероятно, являются результатом скачка ПЦР, чему способствует наличие прямых повторов, фланкирующих шпильку. Это демонстрирует, что паттерн ДИД действительно является сильно мутагенным и может привести к образованию делеций (Mikhailov et al., 2019). Второй эксперимент на мтДНК человека показал, что репликативные полимеразы могут вызывать делеции посредством рекомбинации с выбором копии между прямыми повторами и что этот эффект усиливается вторичными структурами (Persson et al., 2019), которые поддерживаются инвертированными повторами. Кроме того, предыдущее исследование показало, что гомологии коротких последовательностей (то есть прямые повторы) играют роль в образовании делеций у бактерий (Albertini et al., 1982). Также было обнаружено, что горячая точка делеций характеризуется вторичной структурой с инвертированными повторами (Albertini et al., 1982), которая очень напоминает хрупкий паттерн ДИД, предложенный в проведенном исследовании. Наконец, остановка ДНК-полимеразы вблизи общего повтора мтДНК человека является предпосылкой образования общей делеции, что показано в работе (Phillips et al., 2017). Согласно предложенному механизму, сформировавшаяся контактная зона дает возможность скачка ПЦР по плечам прямого повтора благодаря их близости в пространстве.

Глава 6. Митохондриально-специфический мутационный признак старения: повышенная частота замен A > G в тяжелой цепи.

В шестой главе центральное место занимает вопрос о повышенной частоте замен A>G в тяжелой цепи (Н-цепи) мтДНК как о видоспецифичном мутационном признаком, связанном со старением. В фокусе работы было изучение того, как частота мутаций в мтДНК изменяется с возрастом и длиной поколения у разных видов, а также влияние на мутационный процесс различных факторов. Для этого мы реконструировали видоспецифический мутационный спектр для 611 видов млекопитающих, собрав последовательности их мтДНК и использовав внутривидовую филогению с реконструкцией предковых состояний, чтобы оценить вероятность мутации каждого нуклеотида в другой. Основное внимание было уделено заменам A>G в Н-цепи, для анализа которых был рассчитан перекос G_HA_H, отражающий асимметрию содержания гуанина и аденина, с использованием только синонимичных четырехкратно вырожденных сайтов. Этот подход позволил выявить, что на скорость этих замен значимое влияние оказывают видоспецифичная длина поколения и время, проведенное мтДНК в одноцепочечном состоянии (TSSS).

Выводы

Разработан и апробирован инновационный методологический инструментарий для анализа повторов мтДНК: Создан и реализован оригинальный алгоритм на Python для детекции всех типов несовершенных повторов (прямых, инвертированных, зеркальных, комплементарных) в кольцевой мтДНК, адаптированный к её специфике. Развёрнута общедоступная база данных повторов для более 4000 референсных геномов позвоночных, включающая инструменты визуализации, сравнения и экспорта. Этот ресурс устраниет пробелы существующих решений и открывает новые возможности для изучения эволюции, мутагенеза и функциональной роли повторов.

Установлены универсальные закономерности организации повторов в мтДНК: Показано, что несовершенные повторы мтДНК характеризуются малой длиной, ассоциацией с релаксированными структурами ДНК и отрицательной

корреляцией с GC-составом генома. Обнаружена эквивалентность пар типов повторов (прямые/зеркальные и инвертированные/комплементарные) по нуклеотидному составу и распределению, что задает новую нулевую гипотезу для эволюционных исследований. Выявлено аномальное обогащение GC-динуклеотидами (превышение GC над CG) в легкой цепи повторяющихся участков.

Раскрыта ключевая роль пространственной структуры мтДНК в образовании делеций: Экспериментально (*in silico*) установлено, что образование делеций в мтДНК определяется в первую очередь не микрогомологией последовательностей, а пространственной близостью участков разрыва, обеспечиваемой вторичной структурой одноцепочечной тяжелой цепи (Н-цепи). Предложена модель шпильки в области 6-9 и 13-16 т.п.н. мтДНК человека как ключевого детерминанта "горячих точек" делеций. Количественно доказано преобладающее влияние фактора "зоны контакта" вторичной структуры над фактором микрогомологии (отношение шансов 0.91 против 0.33), что указывает на универсальный механизм пространственного сближения удаленных участков ДНК через стабилизированные инвертированными повторами макроструктуры как основу делеционного процесса.

Подтверждена связь между повторами мтДНК и продолжительностью жизни на определенных гаплогруппах: показано, что нарушение консервативного прямого повтора (13 п.н.) герминативной мутацией m.8473T>C в гаплогруппе D4a коррелирует с экстремальным долголетием, а разрушение паттернов DI...ID снижает риск соматических делеций, потенциально замедляя возрастные патологии (нейродегенерацию и саркопению). Выдвинута и подтверждена гипотеза, согласно которой дефицит прямых и инвертированных повторов в мтДНК долгоживущих видов возник как механизм отрицательного отбора, снижающего частоту соматических делеций и потенциально увеличивающего продолжительность здоровой жизни.

Предложены мутагенные механизмы, опосредованные повторами: Установлено, что комбинации прямых и инвертированных повторов (DI...ID) являются ключевыми драйверами делеций в мтДНК через остановку репликационной вилки и облегчение перестроек. Экспериментально подтверждена высокая мутагенность таких структур, проявляющаяся в статистически значимом увеличении частоты делеций, когда прямые повторы вложены в пары инвертированных повторов. Эволюционный дефицит этих паттернов в мтДНК человека и их отрицательная корреляция с продолжительностью жизни млекопитающих указывают на действие очищающего отбора против этих нестабильных элементов.

Установлены детерминанты мутационного спектра мтДНК: Показано, что замены A>G ($A_H>G_H$) в мтДНК формируются преимущественно мутагенезом (а не отбором) и зависят от двух факторов: (1) времени нахождения в одноцепочечном состоянии (TSSS) при репликации, (2) окислительного повреждения, связанного с длиной поколения. Избыток G_H -сайтов у долгоживущих видов объясняется нейтральным накоплением мутаций $A_H>G_H$, усиленным малым эффективным размером популяции, а не адаптивным отбором.

Заключение

Для изучения механизмов мутагенеза и структуры мтДНК были созданы специализированные алгоритм поиска вырожденных повторов и база данных. Проведенное исследование подтвердило, что вторичная структура одноцепочечной тяжелой цепи мтДНК, в частности зона взаимодействия прямых повторов (формирующих микрогомологию) и инвертированных повторов (формирующих

вторичную структуру), является ключевым фактором образования делеций, особенно у пожилых людей. Также выявлено, что нарушение общего повтора в определённых гаплогруппах mtДНК человека, вероятно, снижает соматическую делеционную нагрузку и замедляет старение, хотя этот признак, будучи полезным для долголетия, не находится под положительным отбором, что делает его перспективным, но эволюционно нейтральным вариантом важным как для лечения возрастных заболеваний, так и для понимания более глубоких эволюционных механизмов старения (Hughes, Alipaz, Drnevich, & Reynolds, 2002).

Анализ паттернов DND в mtДНК позволяет количественно оценить хрупкость генома, что в сочетании с ядерными локусами может улучшить оценку полигенного риска возрастных заболеваний. Было бы полезно использовать сравнительные данные о видах, чтобы расширить выдвинутую гипотезу до эволюционного масштаба и продемонстрировать, что паттерны DND увеличивают количество делеций в mtДНК всех видов. Первоначально сообщалось, что продолжительность жизни млекопитающих отрицательно коррелирует с обилием прямых повторов в mtДНК (Khaidakov et al., 2006; Samuels, 2004), предполагая, что прямые повторы приводят к образованию делеций mtДНК, ограничивающих продолжительность жизни. Позже было обнаружено, что инвертированные повторы имеют еще более сильную отрицательную корреляцию с продолжительностью жизни млекопитающих (Yang et al., 2013). В последнее время обсуждается сильная положительная корреляция между обилием прямых и инвертированных повторов (Shamanskiy, Timonina, Popadin, & Gunbin, 2019). На данный момент ведется анализ роли G-квадруплексов в усилении эффекта инвертированного повтора вложенного в прямой повтор. Результаты исследования предполагают, что как прямые, так и инвертированные повторы отрицательно коррелируют с продолжительностью жизни млекопитающих и совместно формируют паттерны DND, которые являются перспективными предикторами делеционной нагрузки и продолжительности жизни млекопитающих. Аннотация этих паттернов у различных видов открывает новое направление для изучения эволюционных механизмов старения.

Полученные данные о мутационных спектрах mtДНК имеют практическое применение: соматические мутации могут служить метрикой клеточного старения в тканях (например, при раке), а реконструкция спектров у немодельных видов позволяет оценить продолжительность поколения. Проведенное исследование демонстрирует взаимосвязь между мутагенезом mtДНК, окислительным повреждением и старением, где окислительный стресс, усиливающийся с возрастом, выступает универсальным фактором. Эти находки подчеркивают важность учета мутационных спектров mtДНК в соматических, популяционных и эволюционных исследованиях. Анализ мутационных спектров может быть интересным шагом в контексте анализа эволюции повторов которые в ходе мутагенеза могут стать совершенными, либо наоборот исчезнуть, а так же областей близких к тому чтобы образовать повтор.

Список литературы

- Albertini, A. M., Hofer, M., Calos, M. P., & Miller, J. H. (1982). On the formation of spontaneous deletions: the importance of short sequence homologies in the generation of large deletions. *Cell*, 29(2), 319–328. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90148-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90148-9)
- Alexe, G., Fuku, N., Bilal, E., Ueno, H., Nishigaki, Y., Fujita, Y., ... Tanaka, M. (2007). Enrichment of longevity phenotype in mtDNA haplogroups D4b2b, D4a, and D5 in the Japanese population. *Human Genetics*, 121(3–4), 347–356. <https://doi.org/10.1007/s00439-007-0330-6>
- Barritt, J. A., Brenner, C. A., Cohen, J., & Matt, D. W. (1999). Mitochondrial DNA rearrangements in human oocytes and embryos. *Molecular Human Reproduction*, 5(10), 927–933.

- <https://doi.org/10.1093/molehr/5.10.927>
- Bender, A., Krishnan, K. J., Morris, C. M., Taylor, G. A., Reeve, A. K., Perry, R. H., ... Turnbull, D. M. (2006). High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nature Genetics*, 38(5), 515–517. <https://doi.org/10.1038/ng1769>
- Bilal, E., Rabadian, R., Alexe, G., Fuku, N., Ueno, H., Nishigaki, Y., ... Tanaka, M. (2008). Mitochondrial DNA haplogroup D4a is a marker for extreme longevity in Japan. *Plos One*, 3(6), e2421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002421>
- Chan, C. C. W., Liu, V. W. S., Lau, E. Y. L., Yeung, W. S. B., Ng, E. H. Y., & Ho, P. C. (2005). Mitochondrial DNA content and 4977 bp deletion in unfertilized oocytes. *Molecular Human Reproduction*, 11(12), 843–846. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah243>
- Cortopassi, G. A. (2002). A neutral theory predicts multigenic aging and increased concentrations of deleterious mutations on the mitochondrial and Y chromosomes. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(5), 605–610. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)00966-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)00966-8)
- Damas, J., Carneiro, J., Amorim, A., & Pereira, F. (2014). MitoBreak: the mitochondrial DNA breakpoints database. *Nucleic Acids Research*, 42(Database issue), D1261-8. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt982>
- Guo, X., Popadin, K. Y., Markuzon, N., Orlov, Y. L., Kravtsberg, Y., Krishnan, K. J., ... Khrapko, K. (2010). Repeats, longevity and the sources of mtDNA deletions: evidence from “deletional spectra”. *Trends in Genetics*, 26(8), 340–343. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2010.05.006>
- Herbst, A., Pak, J. W., McKenzie, D., Bua, E., Bassiouni, M., & Aiken, J. M. (2007). Accumulation of mitochondrial DNA deletion mutations in aged muscle fibers: evidence for a causal role in muscle fiber loss. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 62(3), 235–245. <https://doi.org/10.1093/gerona/62.3.235>
- Herbst, A., Wanagat, J., Cheema, N., Widjaja, K., McKenzie, D., & Aiken, J. M. (2016). Latent mitochondrial DNA deletion mutations drive muscle fiber loss at old age. *Aging Cell*, 15(6), 1132–1139. <https://doi.org/10.1111/acel.12520>
- Hughes, K. A., Alipaz, J. A., Drnevich, J. M., & Reynolds, R. M. (2002). A test of evolutionary theories of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(22), 14286–14291. <https://doi.org/10.1073/pnas.222326199>
- Khaidakov, M., Siegel, E. R., & Shmookler Reis, R. J. (2006). Direct repeats in mitochondrial DNA and mammalian lifespan. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127(10), 808–812. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.07.008>
- Khrapko, K., & Vijg, J. (2007). Mitochondrial DNA mutations and aging: a case closed? *Nature Genetics*, 39(4), 445–446. <https://doi.org/10.1038/ng0407-445>
- Kravtsberg, Y., Kudryavtseva, E., McKee, A. C., Geula, C., Kowall, N. W., & Khrapko, K. (2006). Mitochondrial DNA deletions are abundant and cause functional impairment in aged human substantia nigra neurons. *Nature Genetics*, 38(5), 518–520. <https://doi.org/10.1038/ng1778>
- Lorenz, R., Bernhart, S. H., Höner Zu Siederdissen, C., Tafer, H., Flamm, C., Stadler, P. F., & Hofacker, I. L. (2011). ViennaRNA Package 2.0. *Algorithms for Molecular Biology*, 6, 26. <https://doi.org/10.1186/1748-7188-6-26>
- Lujan, S. A., Longley, M. J., Humble, M. H., Lavender, C. A., Burkholder, A., Blakely, E. L., ... Copeland, W. C. (2020). Ultrasensitive deletion detection links mitochondrial DNA replication, disease, and aging. *Genome Biology*, 21(1), 248. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02138-5>
- Mikhailov, K. V., Efeykin, B. D., Panchin, A. Y., Knorre, D. A., Logacheva, M. D., Penin, A. A., ... Panchin, Y. V. (2019). Coding palindromes in mitochondrial genes of Nematomorpha. *Nucleic Acids Research*, 47(13), 6858–6870. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz517>
- Persson, Ö., Muthukumar, Y., Basu, S., Jenninger, L., Uhler, J. P., Berglund, A.-K., ... Falkenberg, M. (2019). Copy-choice recombination during mitochondrial L-strand synthesis causes DNA deletions. *Nature Communications*, 10(1), 759. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08673-5>
- Phillips, A. F., Millet, A. R., Tigano, M., Dubois, S. M., Crimmins, H., Babin, L., ... Sfeir, A. (2017). Single-Molecule Analysis of mtDNA Replication Uncovers the Basis of the Common Deletion. *Molecular Cell*, 65(3), 527-538.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.12.014>
- Pina, A. F., Sousa, S. F., Azevedo, L., & Carneiro, J. (2022). Non-B DNA conformations analysis through molecular dynamics simulations. *Biochimica et Biophysica Acta. General Subjects*, 1866(12), 130252. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2022.130252>

- Poovathingal, S. K., Gruber, J., Lakshmanan, L., Halliwell, B., & Gunawan, R. (2012). Is mitochondrial DNA turnover slower than commonly assumed? *Biogerontology*, 13(5), 557–564. <https://doi.org/10.1007/s10522-012-9390-7>
- Rebolledo-Jaramillo, B., Su, M. S.-W., Stoler, N., McElhoe, J. A., Dickins, B., Blankenberg, D., ... Makova, K. D. (2014). Maternal age effect and severe germ-line bottleneck in the inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(43), 15474–15479. <https://doi.org/10.1073/pnas.1409328111>
- Samuels, D. C., Schon, E. A., & Chinnery, P. F. (2004). Two direct repeats cause most human mtDNA deletions. *Trends in Genetics*, 20(9), 393–398. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.07.003>
- Samuels, D. C. (2004). Mitochondrial DNA repeats constrain the life span of mammals. *Trends in Genetics*, 20(5), 226–229. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.03.003>
- Shamanskiy, V. A., Timonina, V. N., Popadin, K. Y., & Gunbin, K. V. (2019). ImtRDB: a database and software for mitochondrial imperfect interspersed repeats annotation. *BMC Genomics*, 20(Suppl 3), 295. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5536-1>
- Trifunovic, A., Wredenberg, A., Falkenberg, M., Spelbrink, J. N., Rovio, A. T., Bruder, C. E., ... Larsson, N.-G. (2004). Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*, 429(6990), 417–423. <https://doi.org/10.1038/nature02517>
- Vermulst, M., Wanagat, J., Kujoth, G. C., Bielas, J. H., Rabinovitch, P. S., Prolla, T. A., & Loeb, L. A. (2008). DNA deletions and clonal mutations drive premature aging in mitochondrial mutator mice. *Nature Genetics*, 40(4), 392–394. <https://doi.org/10.1038/ng.95>
- Wilton, P. R., Zaidi, A., Makova, K., & Nielsen, R. (2018). A population phylogenetic view of mitochondrial heteroplasmy. *Genetics*, 208(3), 1261–1274. <https://doi.org/10.1534/genetics.118.300711>
- Yang, J.-N., Seluanov, A., & Gorbunova, V. (2013). Mitochondrial inverted repeats strongly correlate with lifespan: mtDNA inversions and aging. *Plos One*, 8(9), e73318. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073318>
- Zhang, Y., Xiong, Y., & Xiao, Y. (2022). 3ddna: A computational method of building DNA 3D structures. *Molecules*, 27(18). <https://doi.org/10.3390/molecules27185936>
- Zuker, M. (2003). Mfold web server for nucleic acid folding and hybridization prediction. *Nucleic Acids Research*, 31(13), 3406–3415. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg595>

Список опубликованных работ по теме диссертации

В журналах, рекомендованных ВАК и иностранных рецензируемых журналах:

1. **Shamanskiy V** et al. Secondary structure of the human mitochondrial genome affects formation of deletions. *BMC Biol.* 2023 May 8;21(1):103. doi: 10.1186/s12915-023-01606-1. PMID: 37158879; PMCID: PMC10166460;
2. Mikhailova AG, Mikhailova AA, Ushakova K, Tretiakov EO, Iliushchenko D, **Shamansky V**, Lobanova V, Kozenkov I, Efimenko B, Yurchenko AA, Kozenkova E, Zdobnov EM, Makeev V, Yurov V, Tanaka M, Gostimskaya I, Fleischmann Z, Annis S, Franco M, Wasko K, Denisov S, Kunz WS, Knorre D, Mazunin I, Nikolaev S, Fellay J, Reymond A, Khrapko K, Gunbin K, Popadin K. A mitochondria-specific mutational signature of aging: increased rate of A > G substitutions on the heavy strand. *Nucleic Acids Res.* 2022 Oct 14;50(18):10264-10277. doi: 10.1093/nar/gkac779. PMID: 36130228; PMCID: PMC9561281.;
3. **Shamanskiy VA** et al. ImtRDB: a database and software for mitochondrial imperfect interspersed repeats annotation. *BMC Genomics*. 2019 May 8;20(Suppl 3):295. doi: 10.1186/s12864-019-5536-1. Erratum in: *BMC Genomics*. 2019 Jul 8;20(1):556. doi: 10.1186/s12864-019-5950-4.. Shamanskiy VN [corrected to Shamanskiy VA]. PMID: 31284879; PMCID: PMC6614062.

Результаты работы, опубликованные в сборниках тезисов конференций:

1. Шаманский В. А. и др. ImtRDB: a database and software for mitochondrial imperfect interspersed repeats annotation // Сборник тезисов международной конференции Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology – 2018. The 11th International Conference (BGRS\SB-2018). Mathematical Modeling and High-Performance Computing in Bioinformatics, Biomedicine and Biotechnology, MM-HPC-BBB-2018 The 3rd International Symposium // Россия, Новосибирск // устный доклад, 20–25 август 2018 г.
2. Шаманский В. А. и др. ImtRDB: a database and software for mitochondrial imperfect interspersed repeats annotation // Список принятых докладов на Школу молодых ученых Systems Biology and Bioinformatics – 2018 (SBB-2018) // Россия, Новосибирск // устный доклад, 27–31 август 2018 г.
3. Shamanskiy V. et al. Seeking for mtDNA structural determinants of organisms longevity // Сборник тезисов международной конференции The Society for Molecular Biology & Evolution conference - 2019 (SMBE-2019) // Великобритания, Манчестер // постерный доклад, 21–25 июля 2019 г.
4. Shamanskiy V. et al. Risk of somatic mitochondrial deletions is affected by the secondary structure of the mitochondrial genome // Сборник тезисов международной конференции "VII International Conference of Young Scientists: Biophysicists, Biotechnologists, Molecular Biologists and Virologists (OpenBio-2020) // онлайн // устный доклад, 27-30 октября 2020 г.
5. Shamanskiy V. et al. Risk of somatic mitochondrial deletions is affected by the secondary structure of the mitochondrial genome // Сборник тезисов всероссийской конференции XXVII International Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists "Lomonosov" // онлайн // устный доклад, 10-27 ноября 2020 г.
6. Shamanskiy V. et al. Somatic deletions in the human mitochondrial genome: the global secondary structure, G-quadruplexes and direct nucleotide repeats explain majority of breakpoints // Сборник тезисов международной конференции The Society for Molecular Biology & Evolution conference - 2021 (SMBE-2021) // онлайн // постерный доклад, 3-8 июля 2021 г.
7. Shamanskiy V. et al. Risk of mitochondrial deletions is affected by the global secondary structure of the mitochondrial genome // Сборник тезисов летней школы School of Bioinformatics - 2021 (Institute of Bioinformatics) // Россия, Санкт-Петербург // постерный доклад, 23-27 июля 2021 г.
8. Шаманский В. А. и др. Risk of mitochondrial deletions is affected by the global secondary structure of the mitochondrial genome // Библиотека тезисов международной конференции The European Human Genetics Conference (ESGH-2021) // онлайн // постерный доклад, 28-31 августа 2021 г.
9. Shamanskiy V. et al. Somatic deletions in the human mitochondrial genome: the global secondary structure, G-quadruplexes and direct nucleotide repeats explain majority of breakpoints // Сборник тезисов 10-ой международной конференции Moscow Conference on Computational Molecular Biology (MCCMB-2021) // Россия, Москва // постерный доклад, 30 июля - 2 августа 2021 г.
10. Шаманский В. А. и др. Влияние нуклеотидных мотивов и структуры mitochondrialного генома на образование делеций // Сборник тезисов докладов всероссийского форума молодых исследователей ХимБиоСeasons 2023 // Россия, Калининград // устный доклад, 20-21 апреля 2023 г.
11. Shamanskiy V. et al. Towards quantification of the mitochondrial component of aging: fragility score as a risk of mtDNA deletion formation // Сборник тезисов

- международной конференции The Society for Molecular Biology & Evolution conference (SMBE-2023) // онлайн // постерный доклад, 23–27 июль 2023 г.
12. Шаманский В. А. и др. Влияние нарушенного общего повтора на здоровое старение на примере гаплогрупп японских долгожителей // Сборник тезисов всероссийской 11-ой Moscow Conference on Computational Molecular Biology (MCCMB-2023) // Россия, Москва // устный доклад, 3-6 августа 2023 г.
13. Шаманский В. А. и др. На пути к количественной оценке митохондриальной компоненты старения: оценка хрупкости как фактора риска образования делеции mtДНК // Сборник тезисов международной конференции "X International Conference of Young Scientists: Biophysicists, Biotechnologists, Molecular Biologists and Virologists (OpenBio-2023) // онлайн // устный доклад, 26-29 сентября 2023 г.
14. Шаманский В. А. и др. Сравнение вероятности делеций mtДНК в регионах, фланкированных различными комбинациями прямых и инвертированных повторов // Сборник тезисов всероссийской 12-ой Moscow Conference on Computational Molecular Biology (MCCMB-2025) // Россия, Москва // постерный доклад, 31 июля - 3 августа 2025 г.
15. Shamanskiy V. et al. Towards a quantitative assessment of the mitochondrial component of aging: the fragility score as an indicator of the risk of mtDNA deletion formation // Сборник тезисов международной научной конференции "LIFE SCIENCES TODAY 2025" // Казахстан, Астана // постерный доклад, 17–19 сентябрь 2025 г.