

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Пономаренко
Михаила Павловича на тему: "Компьютерный анализ
контекстно-зависимых количественных характеристик
специфической биологической активности сайтов в составе
геномной ДНК", представленную на соискание ученой степени
доктора биологических наук по специальности
03.01.09 – математическая биология, биоинформатика

Диссертационная работа Михаила Павловича Пономаренко посвящена исследованию экспериментально измеренных количественных величин специфической биологической активности сайтов в составе геномной ДНК. Оценки количественных уровней транскрипции генов - первого и часто лимитирующего этапа их экспрессии, - на основе нуклеотидных последовательностей промоторов этих генов, способствуют анализу индивидуальных геномов в рамках персонифицированной медицины. Выявление контекстно-зависимых количественных параметров генома, коррелирующих с частотами предмутационных повреждений теми или иными мутагенами и с каталитическими константами репарации этих повреждений, способствует адекватному пониманию соматического мутагенеза как важного фактора гиперэкспрессии онкогенов в опухолях, необходимому для развития противоопухолевой терапии. В связи с этим исследования в данной области математической биологии и биоинформатики следует считать актуальными.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, четырех глав, каждая из которых содержит материалы, методы, результаты и обсуждения в качестве разделов этих глав, а также заключение, выводы, список литературы (467 источников), список терминов, обозначений и сокращений. Диссертационная работа изложена на 310 страницах машинописного текста, включая 81 рисунок и 41 таблицу. Оформление работы соответствует рекомендованным правилам оформления диссертаций.

Во **Введении** автор ясно формулирует актуальность темы, цель и задачи исследования, аргументирует новизну подходов к решению поставленных задач и степень достижения выбранной цели. При этом

адекватно оценивается теоретическая значимость и демонстрируется практическая ценность работы. Выносимые на защиту положения непосредственно отражают оригинальность постановки задач исследования и результаты, полученные в ходе их решения.

Глава 1 “Обзор литературы” достаточно полно отражает современное состояние баз данных по геномным последовательностям ДНК и методов их биоинформатического анализа, детально представляя область исследований к началу выполнения диссертационной работы. Значительная часть обзора литературы посвящена верификации компьютерных расчетов с помощью независимых экспериментальных данных, что является важнейшим фактором, который задает вектор развития биоинформатики. Анализ литературы позволил автору обосновать постановку в качестве оригинальной цели исследования выявление особенностей структурно-функциональной организации сайтов в составе геномной ДНК, определяющих количественные величины их специфической биологической активности, с использованием методов биоинформатического анализа и моделирования.

Глава 2 диссертации посвящена достижению автором цели диссертации в рамках ее наиболее упрощенного частного случая: выявить отличия свойств двойной спирали ДНК TATA-бокса (самого изученного регуляторного сайта в составе геномной ДНК) от виртуальных последовательностей независимых равновероятных случайных нуклеотидов. Он объединил созданные при этом базы данных и компьютерные программы в систему bDNAvideo. Выявленные с помощью этой системы отличия TATA-боксов от случайных ДНК автор верифицировал на независимых экспериментальных данных о связывании TATA-связывающего белка (TBP) с промоторами генов эукариот. Наконец, он применил bDNAvideo к анализу сайтов связывания 42 транскрипционных факторов. В результате М.П. Пономаренко обнаружил их достоверную кластеризацию на две группы, одной из которых были основные и Zn-координируемые белки с локальным избытком положительного электростатического заряда, взаимодействующего с локальным избытком

отрицательного электростатического заряда на сахаро-фосфатном остове ДНК, другой - белки с β -слоем или гомеодоменом, взаимодействующие с ДНК как "ключ и замок" без локальных избытков электростатических зарядов.

Глава 3 описывает дополнение упрощенной системы bDNAvideo до целевой системы Activity для достижения цели исследования в полном объеме, что автор демонстрирует на примере TATA-бокса. На основе компьютерных расчетов системы Activity для представительного набора природных TATA-боксов человека был впервые спланирован эксперимент по измерению величин сродства TBP/ДНК *in vitro*, результаты которого подтвердили достоверность предсказания этих величин.

Глава 4 демонстрирует широту границ применимости Activity, созданной на основе данных о сродстве TBP/ДНК, на примере сайтов предмутационных повреждений геномной ДНК. Автор выбрал этот пример как эквивалент усреднения экспериментальных измерений на независимо приготовленных пробах для снижения влияния неконтролируемых условий. Здесь он впервые вывел уравнения для предсказания константы Михаэлиса и каталитической константы репарации оксогуанина по окрестности этого предмутационного повреждения в геномной ДНК и подтвердил их данными независимых опытов.

Глава 5 иллюстрирует применение системы Activity для решения таких практических задач, как анализ влияния мутаций в регуляторном белке на его специфичность к генам-мишеням и анализ полиморфизма, ассоциированного с патологией человека, с целью выявления транскрипционного фактора, сайт связывания которого в регуляторном районе гена варьирует в геноме человека.

Все, вместе взятое, свидетельствует о достижении автором в полной мере цели диссертационной работы в результате решения всех поставленных задач.

Научная новизна предпринятого исследования заключается в сочетании математической теории полезности для принятия решений с нечеткими множествами как нового подхода для выявления контекстно-

зависимых свойств спирали ДНК в геномных сайтах, оценки которых коррелируют с экспериментальными величинами биологической активности этих сайтов. Обнаружено также, что контекстно-зависимые характеристики сайтов ДНК, коррелирующие с их активностью, адекватно отражают такие биологически значимые особенности генома как частоты предмутационных повреждений и сродство регуляторных белков к промоторам генов. Результаты расчетов были сравнены с данными независимых опытов, нет сомнений в их достоверности.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций.

Диссертационное исследование М.П. Пономаренко в целом выполнено на высоком научном и методическом уровне с использованием современных подходов математики, методов биоинформатики и экспериментальных молекулярно-биологических данных.

Вся совокупность полученных результатов автора адекватно отражена в **Выводах**. Каждый вывод диссертации соответствует результатам расчетов, верифицированных соответствующими независимыми экспериментальными данными. Автореферат диссертации адекватно отражает ее содержание.

Замечания к работе:

Диссертационная работа М.П. Пономаренко изложена ясным научным языком. Все главы диссертации логически связаны между собой и отражают ход решения задач исследования по мере продвижения к поставленной цели. Тем не менее, в тексте диссертации есть опечатки, грамматические ошибки, стилистические погрешности и англицизмы, которые, однако, не искажают ее содержания. Порядок изложения текста диссертации не совпадает с порядком ее выводов. Например, последний вывод о системе bDNAvideo был обоснован в главе 2 (стр. 129), в то время как первый вывод о системе Activity – в главе 3 (стр. 155). Однако все эти замечания не влияют на восприятие рассматриваемой диссертации и не снижают ее научной ценности.

Всё вышесказанное позволяет сделать **Заключение**, что диссертационное исследование Пономаренко Михаила Павловича на тему "Компьютерный анализ контекстно-зависимых количественных характеристик специфической биологической активности сайтов в составе геномной ДНК", по своей новизне, актуальности и значимости результатов, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, удовлетворяет всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор Пономаренко Михаил Павлович заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Официальный оппонент

Академик Российской Академии наук, руководитель отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий научно-исследовательского центра федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук по специальностям: 14.00.16 – "патологическая физиология", 14.00.27 – "хирургия".



Дубина Михаил Владимирович

22 сентября 2017 года

Почтовый адрес: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8
Тел. +7(812)338-78-95 Факс: + 8 (812) 338-66-02, e-mail: info@1spbgbmu.ru
Тел. отдела мол-ген. и нанобиологических технологий: +7(812) 347-55-46

Подпись руки заверяю:	Дубина М.В.
Спец. по кадрам	Шуряева Т.С.
« 26 »	09 2017 г.