

Заключение диссертационного совета МГУ.014.2

по диссертации на соискание ученой степени доктора наук

Решение диссертационного совета от «24» сентября 2024 г. № 18

О присуждении Первушину Дмитрию Давидовичу, гражданину РФ, ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «Альтернативный сплайсинг и дальние взаимодействия в структуре эукариотических РНК» по специальности 1.5.3. Молекулярная биология принята к защите диссертационным советом 25 июня 2024 года, протокол № 16.

Соискатель Первушин Дмитрий Давидович, 1974 года рождения, в 2002 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук «Орбиты и инварианты пучков квадратных матриц» в диссертационном совете Д.501.001.84, созданном на базе МГУ имени М.В. Ломоносова, по специальности 01.01.06. «Математическая логика, алгебра и теория чисел».

Соискатель работает в должности доцента в Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский Институт Науки и Технологии» (Сколтех). Диссертация выполнена в Центре молекулярной и клеточной биологии Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский Институт Науки и Технологии» (Сколтех).

Официальные оппоненты:

- Юсупов Марат Миратович, доктор химических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр РАН», ведущий научный сотрудник лаборатории структурного анализа биомакромолекул
- Шайтан Алексей Константинович, доктор физико-математических наук, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, профессор кафедры биоинженерии

- Кулаковский Иван Владимирович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт белка Российской академии наук», ведущий научный сотрудник

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 49 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 41 работа, из них 33 статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.3. «Молекулярная биология», и один патент, приравненный к публикации.

Статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.014.2:

1. Zavileyskiy L.G., Pervouchine D.D. Post-transcriptional Regulation of Gene Expression via Unproductive Splicing. *Acta Naturae*. — 2024. V. 16, №. 1. P. 4–13. (1.16 п. л.; Вклад автора 50%; JIF=2.0 WoS).
2. Dhaka B., Zimmerli M., Hanhart D., Moser M. B., Guillen-Ramirez H., Mishra S., Esposito R., Polidori T., Widmer M., García-Pérez R., Julio M. K., Pervouchine D., Melé M., Chouvardas P., Johnson R. Functional identification of cis-regulatory long noncoding RNAs at controlled false discovery rates. *Nucleic Acids Research*. — 2024. V. 52, №. 6. P. 2821–2835. (1.73 п. л.; Вклад автора 10%; JIF=14.9 WoS).
3. Vorobeva M.A., Skvortsov D.A., Pervouchine D.D. Cooperation and Competition of RNA Secondary Structure and RNA-Protein Interactions in the Regulation of Alternative Splicing. *Acta Naturae*. — 2023. V. 15, №. 4. P. 23–31. (1.04 п. л.; Вклад автора 40%; JIF=2.0 WoS).
4. Petrova M., Margasyuk S., Vorobeva M., Skvortsov D., Dontsova O. A., Pervouchine D.D. BRD2 and BRD3 genes independently evolved RNA structures to control unproductive splicing. *NAR Genomics and Bioinformatics*. — 2024. V. 6, №. 1. P. lqad113. (1.16 п. л.; Вклад автора 40%; JIF=4.6 WoS).
5. Margasyuk S., Zavileyskiy L., Cao Ch., Pervouchine D. Long-range RNA structures in the human transcriptome beyond evolutionarily conserved regions. *PeerJ*. — 2023. V. 11. P. e16414. (1.96 п. л.; Вклад автора 50%; JIF=2.7 WoS).
6. Margasyuk S., Kalinina M., Petrova M., Skvortsov D., Cao Ch., Pervouchine D.D. RNA in situ conformation sequencing reveals novel long-range RNA structures

with impact on splicing. *RNA*. — 2023. V. 29, №. 9. P. 1423–1436. (1.62 п. л.; Вклад автора 40%; JIF=3.9 WoS).

7. Vlasenok M., Margasyuk S., Pervouchine D.D. Transcriptome sequencing suggests that pre-mRNA splicing counteracts widespread intronic cleavage and polyadenylation. *NAR Genomics and Bioinformatics*. — 2023. V. 5, №. 2. P. lqad051. (1.73 п. л.; Вклад автора 50%; JIF=4.6 WoS).

8. Margasyuk S.D., Vlasenok M.A., Li G., Cao Ch., Pervouchine D.D. RNAcontacts: A Pipeline for Predicting Contacts from RNA Proximity Ligation Assays. *Acta Naturae*. — 2023. V. 15, №. 1. P. 51–57. (0.81 п. л.; Вклад автора 50%; JIF=2.0 WoS).

9. Mironov A., Petrova M., Margasyuk S., Vlasenok M., Mironov A.A., Skvortsov D., Pervouchine D.D. Tissue-specific regulation of gene expression via unproductive splicing. *Nucleic Acids Research*. — 2023. V. 51, №. 7. P. 3055–3066. (1.39 п. л.; Вклад автора 40%; JIF=14.9 WoS).

10. Baranovsky A., Ivanov T., Granovskaya M., Papatsenko D., Pervouchine D.D. Transcriptome analysis reveals high tumor heterogeneity with respect to re-activation of stemness and proliferation programs. *PLoS One*. — 2022. V. 17, №. 5. P. e0268626. (2.66 п. л.; Вклад автора 50%; JIF=3.7 WoS).

11. Ivanov T.M., Pervouchine D.D. Tandem Exon Duplications Expanding the Alternative Splicing Repertoire. *Acta Naturae*. — 2022. V. 14, №. 1. P. 73–81. (1.04 п. л.; Вклад автора 75%; JIF=2.0 WoS).

12. Kalmykova S., Kalinina M., Denisov S., Mironov A., Skvortsov D., Guigó R., Pervouchine D. Conserved long-range base pairings are associated with pre-mRNA processing of human genes. *Nature Communications*. — 2021. V. 12, №. 1. P. 2300. (1.96 п. л.; Вклад автора 75%; JIF=16.6 WoS).

13. Mironov A., Denisov S., Gress A., Kalinina O.V., Pervouchine D.D. An extended catalog of tandem alternative splice sites in human tissue transcriptomes. *PLoS Computational Biology*. — 2021. V. 17, №. 4. P. e1008329. (3.47 п. л.; Вклад автора 40%; JIF=4.3 WoS).

14. Kalinina M., Skvortsov D., Kalmykova S., Ivanov T., Dontsova O., Pervouchine D.D. Multiple competing RNA structures dynamically control alternative splicing in the human ATE1 gene. *Nucleic Acids Research*. — 2021. V. 49, №. 1. P. 479–490. (1.39 п. л.; Вклад автора 40%; JIF=14.9 WoS).

15. Breschi A., Muñoz-Aguirre M., Wucher V., Davis C.A., Garrido-Martín D., Djebali S., Gillis J., Pervouchine D.D., Vlasova A., Dobin A., Zaleski C., Drenkow J., Danyko C., Scavelli A., Reverter F., Snyder M.P., Gingeras T.R., Guigó R. A limited set of transcriptional programs define major cell types. *Genome Research*. — 2020. V. 30, №. 7. P. 1047–1059. (1.50 п. л.; Вклад автора 10%; JIF=7.0 WoS).

16. Steward C.A., Roovers J., Suner M., Gonzalez J.M., Uszczynska-Ratajczak B., Pervouchine D., Fitzgerald S., Viola M., Stamberger H., Hamdan F.F., Ceulemans B., Leroy P., Nava C., Lepine A., Tapanari E., Keiller D., Abbs S., Sanchis-Juan A., Grozeva D., Rogers A.S., Diekhans M., Guigó R., Petryszak R., Minassian B.A., Cavalleri G., Vitsios D., Petrovski S., Harrow J., Flicek P., Lucy R.F., Lench N.J., Jonghe P.D., Mudge J.M., Weckhuysen S., Sisodiya S.M., Frankish A. Re-annotation of 191 developmental and epileptic encephalopathy-associated genes unmasks de novo variants in SCN1A. *NPJ Genomic Medicine*. — 2019. V. 4, №. 1. P. 31. (1.27 п. л.; Вклад автора 10%; JIF=5.3 WoS).
17. Pervouchine D.D. Circular exonic RNAs: When RNA structure meets topology. *Biochimica et Biophysica Acta Gene Regulatory Mechanisms*. — 2019. V. 1862, №. 11-12. P. 194384. (1.04 п. л.; Вклад автора 100%; JIF=4.7 WoS).
18. Pervouchine D., Popov Y., Berry A., Borsari B., Frankish A., Guigó R. Integrative transcriptomic analysis suggests new autoregulatory splicing events coupled with nonsense-mediated mRNA decay. *Nucleic Acids Research*. — 2019. V. 47, №. 10. P. 5293–5306. (1.62 п. л.; Вклад автора 75%; JIF=14.9 WoS).
19. Ivanov T.M., Pervouchine D.D. An Evolutionary Mechanism for the Generation of Competing RNA Structures Associated with Mutually Exclusive Exons. *Genes*. — 2018. V. 9, №. 7. P. 356. (1.50 п. л.; Вклад автора 75%; JIF=3.5 WoS).
20. Pervouchine Dmitri D. Towards Long-Range RNA Structure Prediction in Eukaryotic Genes. *Genes*. — 2018. V. 9, №. 6. P. 302. (1.04 п. л.; Вклад автора 100%; JIF=3.5 WoS).
21. Ferreira P.G., Muñoz-Aguirre M., Reverter F., Sá Godinho C.P., Sousa A., Amadoz A., Sodaei R., Hidalgo M.R., Pervouchine D., Carbonell-Caballero J., Nurtdinov R., Breschi A., Amador R., Oliveira P., Çubuk C., Curado J., Aguet F., Oliveira C., Dopazo J., Sammeth M., Ardlie K.G., Guigó R. The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. *Nature Communications*. — 2018. V. 9, №. 1. P. 490. (1.73 п. л.; Вклад автора 10%; JIF=16.6 WoS).
22. Breschi A., Djebali S., Gillis J., Pervouchine D.D., Dobin A., Davis C.A., Gingeras T.R., Guigó R. Gene-specific patterns of expression variation across organs and species. *Genome Biology*. — 2016. V. 17, №. 1. P. 151. (1.50 п. л.; Вклад автора 20%; JIF=12.3 WoS).
23. Teng M., Love M.I., Davis C.A., Djebali S., Dobin A., Graveley B.R., Li S., Mason C.E., Olson S., Pervouchine D., Sloan C.A., Wei X., Zhan L., Irizarry R.A. A benchmark for RNA-seq quantification pipelines. *Genome Biology*. — 2016. V. 17. P. 74. (1.39 п. л.; Вклад автора 10%; JIF=12.3 WoS).

24. Frankish A., Uszczynska B., Ritchie G.R.S., Gonzalez J.M., Pervouchine D., Petryszak R., Mudge J.M., Fonseca N., Brazma A., Guigo R., Harrow J. Comparison of GENCODE and RefSeq gene annotation and the impact of reference geneset on variant effect prediction. *BMC Genomics*. — 2015. V. 16, №. 8. P. S2. (1.27 п. л.; Вклад автора 10%; JIF=4.4 WoS).
25. Melé M., Ferreira P.G., Reverter F., DeLuca D.S., Monlong J., Sammeth M., Young T.R., Goldmann J.M., Pervouchine D.D., Sullivan T.J., Johnson R., Segrè A.V., Djebali S., Niarchou A., GTEx Consortium, Wright F.A., Lappalainen T., Calvo M., Getz G., Dermizakis E.T., Ardlie K.G., Guigó R. Human genomics. The human transcriptome across tissues and individuals. *Science*. — 2015. V. 348, №. 6235. P. 660–665. (0.69 п. л.; Вклад автора 10%; JIF=56.9 WoS).
26. Pervouchine D.D, Djebali S., Breschi A., Davis C.A., Barja P.P., Dobin A., Tanzer A., Lagarde J., Zaleski C., See Lei-Hoon, Fastuca M., Drenkow J., Wang H., Bussotti G., Pei B., Balasubramanian S., Monlong J., Harmanci A., Gerstein M., Beer M.A., Notredame C., Guigó R., Gingeras Thomas R Enhanced transcriptome maps from multiple mouse tissues reveal evolutionary constraint in gene expression. *Nature Communications*. — 2015. V. 6. P. 5903. (1.27 п. л.; Вклад автора 50%; JIF=16.6 WoS).
27. Pervouchine D.D. IRBIS: a systematic search for conserved complementarity. *RNA*. 2014. V. 20, №. 10. P. 1519–1531. (1.50 п. л.; Вклад автора 100%; JIF=3.9 WoS).
28. Pervouchine D.D., Knowles D.G., Guigó R. Intron-centric estimation of alternative splicing from RNA-seq data. *Bioinformatics*. — 2013. V. 29, №. 2. P. 273–274. (0.23 п. л.; Вклад автора 75%; JIF=5.8 WoS).
29. Pervouchine D.D., Khrameeva E.E., Pichugina M.Yu., Nikolaienko O.V., Gelfand M.S., Rubtsov P.M., Mironov A.A. Evidence for widespread association of mammalian splicing and conserved long-range RNA structures. *RNA*. — 2012. V. 18, №. 1. P. 1–15. (1.73 п. л.; Вклад автора 75%; JIF=3.9 WoS).
30. Raker V.A., Mironov A.A., Gelfand M.S., Pervouchine D.D. Modulation of alternative splicing by long-range RNA structures in *Drosophila*. *Nucleic Acids Research*. — 2009. V. 37, №. 14. P. 4533–4544. (1.39 п. л.; Вклад автора 75%; JIF=14.9 WoS).
31. Danilova L.V., Pervouchine D.D., Favorov A.V., Mironov A.A. RNAKinetics: a web server that models secondary structure kinetics of an elongating RNA. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*. — 2006. V. 4, №. 2. P. 589–596. (0.92 п. л.; Вклад автора 25%; JIF=1.0 WoS).
32. Isaacs F.J., Dwyer D.J., Ding C., Pervouchine D.D, Cantor C.R., Collins J.J. Engineered riboregulators enable post-transcriptional control of gene expression.

Nature Biotechnology. — 2004. V. 22, №. 7. P. 841–847. (0.92 п. л.; Вклад автора 25%; JIF=46.9 WoS).

33. Pervouchine D.D., Graber J.H., Kasif S. On the normalization of RNA equilibrium free energy to the length of the sequence. Nucleic Acids Research. — 2003. V. 31, №. 9. P. e49. (0.69 п. л.; Вклад автора 90%; JIF=14.9 WoS).

Зарегистрированные патенты

Патент на изобретение No2810907. Система направленного изменения сплайсинга в гене MARK2 [текст] / Д. Д. Первушин [и др.] (Российская Федерация); Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Сколковский институт науки и технологий» ; патент. поверенный Егорова Г. Б. — No 2000108705/28 ; заявл. 03.01.2020; опубл. 02.01.2020, Бюл. No 7 (I ч.); приоритет 01.01.2020, 09/289, 037 (Рос. Федерация). — 5 с.: ил.

На автореферат поступил один дополнительный отзыв, также положительный.

Выбор официальных оппонентов обосновывался высоким уровнем их профессиональной компетенции в области молекулярной биологии, биоинформатики и структуры РНК, а также имеющимися у них научными публикациями по теме диссертации и способностью определить научную и практическую значимость исследования.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований показано влияние дальних взаимодействий в структуре эукариотических РНК на регуляцию альтернативного сплайсинга, что имеет важное теоретическое и практическое значение для молекулярной биологии РНК.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Комплементарные участки предпочтительно располагаются в ин тронах, подавляют использование криптоических сплайс-сайтов и выпетливаемых экзонов,

обогащены сайтами редактирования РНК и сайтами связывания РНК-связывающих белков, и поддерживаются данными конформационного секвенирования РНК *in situ*.

2. Изменение степени включения экзона при замедлении элонгации транскрипции зависит от структурированности предшествующего интрона.

3. Дальние взаимодействия в структуре РНК могут регулировать все основные типы событий альтернативного сплайсинга и альтернативное полиаденилирование, как показывают примеры в генах CG33298, Gug, Nmnat, RNF20L1, CASK, ATE1, SF1 и MARK2.

4. Ген ATE1 содержит два функционально различных структурных модуля, один из которых обеспечивает взаимоисключающий сплайсинг экзонов, а другой благодаря дальним взаимодействиям на расстоянии 30000 п.о. контролирует соотношение сплайс-изоформ через котранскрипционное сворачивание пре-мРНК.

5. Непродуктивный сплайсинг может регулироваться РНК-связывающими белками и дальними взаимодействиями в структуре РНК, как показывают примеры в генах DCLK2, IQGAP1, BRD2 и BRD3.

На заседании 24 сентября 2024 года диссертационный совет принял решение присудить Первушину Дмитрию Давидовичу ученую степень доктора химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 16, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета _____ Донцова О.А.

Ученый секретарь

диссертационного совета _____ Агапкина Ю.Ю.

24 сентября 2024 года