

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
**«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ и ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ИЦиГ СО РАН)**

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090

Телефон: (383) 363-49-80

Факс (383) 333-12-78

E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

<http://www.bionet.nsc.ru>

ИНН 5408100138/КПП 540801001

ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

от 03.12.2019 № 15345-292179/1099

на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИЦиГ СО РАН,

чл.-корр. РАН,



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу соискателя **ДЬЯЧКОВОЙ Марины Сергеевны**

«Сравнительный эволюционный и функциональный анализ генов кластера PFNA у представителей рода *Bifidobacterium*»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность исследования. Диссертационная работа **ДЬЯЧКОВОЙ М.С.** посвящена интересной и актуальной теме — поиску механизмов видоспецифической коммуникации и адаптации к обитанию в организмах человека и других животных под давлением средовых факторов занимаемой экологической ниши. Целью настоящей работы являлась структурно-функциональная характеристика и анализ эволюции кластера генов PFNA бифидобактерий. Кластер PFNA является уникальным для рода *Bifidobacterium* и содержит гены систем передачи сигнала и клеточной адгезии, что предположительно обеспечивает участие кластера в реализации вышеупомянутых механизмов. Интересной особенностью кластера является высокий уровень дивергенции последовательностей входящих в него генов, что может указывать на быструю молекулярную эволюцию и положительный отбор. Быстрая эволюция и положительный отбор нередко затрагивают гены, вовлеченные в коммуникацию с факторами внешней среды, и особенно, биотическими экологическими факторами. Фундаментальная ценность настоящей диссертационной работы заключается в изучении данного феномена у комменсальных микроорганизмов на примере бифидобактерий, так как прежде быстрая эволюция генов как результат антагонистических взаимоотношений была показана для патогенов, но не комменсалов, а также установлении предполагаемых механизмов видоспецифической адаптации бифидобактерий к средовым

предполагаемых механизмов видоспецифической адаптации бифидобактерий к средовым факторам, в особенности, устойчивости к давлению иммунной системы организма хозяина и выживаемости в условиях воспалительного процесса, которые на сегодняшний день изучены весьма слабо.

Структура и содержание работы. Диссертационная работа построена по общепринятым плану и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы». Во введении сформулированы актуальность, цель и задачи работы, обозначены теоретическая и практическая значимость, научная новизна. Глава 1 «Обзор литературы» состоит из 4 разделов и подробно описывает род *Bifidobacterium* и его роль в микробиоте человека и других животных, молекулярные механизмы, обеспечивающие коммуникацию микроорганизмов с факторами занимаемой экологической ниши в организме хозяина, а также быструю эволюцию генов как инструмент адаптации организмов к занимаемой экологической нише. Глава 2 «Материалы и методы» содержит полное описание широкого спектра используемых в работе методов молекулярной генетики, биохимии, микробиологии и биоинформатики. Важно отметить, что детальное описание используемых автором методических процедур обеспечивает воспроизводимость исследования, что соответствует критериям, предъявляемым к диссертационным работам. Глава 3 «Результаты и обсуждение» состоит из 6 разделов и включает описание полученных автором новых данных. В первом разделе описаны результаты проведенной автором структурно-функциональной характеристики кластера генов PFNA в геномах 109 бифидобактериальных штаммов различных видов и подвидов *in silico*. Второй раздел содержит результаты изучения транскрипционной организации кластера PFNA в геноме *B. longum* GT15. В третьем разделе описаны результаты биоинформационического анализа молекулярной эволюции последовательностей генов кластера PFNA в геномах бифидобактериальных штаммов 43 различных видов и подвидов, в том числе, результаты проведенного филогенетического анализа и тестирования гипотез о наличии событий продолжительного и эпизодического положительного отбора. Четвертый раздел содержит результаты сравнительного анализа уровня экспрессии гена *fn3* в геномах 9 бифидобактериальных штаммов различных видов. Пятый раздел описывает результаты экспериментального изучения киназно-субстратного взаимодействия СТПК Pkb2 и АТФазы AAA-TR штаммов *B. longum* GT15 и *B. choerinum* DSM 20434 в реакции перекрестного фосфорилирования. Наконец, шестой раздел содержит результаты экспериментального анализа влияния присутствия в среде провоспалительного цитокина IL-6 на рост культуры и экспрессию генов штамма *B. longum* GT15. В разделе «Заключение» обобщены полученные результаты. В разделе «Выводы» сформулированы основные выводы исследования, строго соответствующие поставленным задачам. Работа изложена на 129 страницах машинописного текста, включая 14 страниц Приложений, содержит 30 рисунков и 19 таблиц. Библиографический указатель содержит 179 источников.

Научная новизна и значимость исследования. В рамках диссертационной работы впервые была определена полногеномная последовательность штамма *B. angulatum* GT 102 в статусе «complete». Сборка генома в статусе «complete» имеет практическую значимость, так как обеспечивает формирование референсной последовательности для полногеномного секвенирования и сборки геномов новых штаммов вида *B. angulatum* и близкородственных видов бифидобактерий. Впервые было дано объяснение феномену быстрой эволюции и высокой степени межвидовой дивергенции последовательностей генов кластера PFNA

бифидобактерий, что расширяет представления о роли положительного отбора в молекулярной эволюции генов, вовлеченных в коммуникацию с факторами занимаемой экологической ниши в организме хозяина. Сайты, на которые осуществляется давление отбора, впервые были локализованы в первичной структуре белков, кодируемых генами кластера. Полученные данные могут быть использованы для расширения структурно-функциональной аннотации данных белков. Впервые была изучена экспериментально и *in silico* транскрипционная организация кластера PFNA в геноме *B. longum* subsp. *longum* GT15. В результате анализа было установлено, что гены *pkb2*, *fn3*, *aaa-atp*, *duf58*, *tgm*, *prpC*, *fha* и ген BLGT_RS02790 в геноме *B. longum* subsp. *longum* GT15 транскрибируются в составе единого оперона, а также были определены точки старта и терминации транскрипции. Впервые была проведена оценка влияния IL-6 как фактора иммунного ответа на рост культуры и экспрессию генов штамма *B. longum* subsp. *longum* GT15. Полученные данные могут быть использованы для изучения генов и генных сетей, участвующих во взаимодействии с иммунной системой организма хозяина. Впервые была изучена видоспецифичность киназно-субстратного взаимодействия на примере штаммов *B. longum* subsp. *longum* GT15 и *B. choerinum* DSM 20434 в ходе киназной реакции. В результате анализа впервые экспериментально была показана функциональная активность полноразмерных СТПК Pkb2 представителей видов *B. longum* subsp. *longum* и *B. choerinum*, субстратная видоспецифичность для СТПК Pkb2 *B. longum* subsp. *longum* GT15 и ее отсутствие для СТПК Pkb2 *B. choerinum* DSM 20434.

Замечания к работе. Несмотря на высокое качество настоящей работы, к содержанию имеются следующие замечания:

В тексте автореферата не расшифрованы некоторые сокращения, например, СТПК, ПААГ.

В разделе «Методы» и «Результаты» Диссертационной работы упоминается термин «скорость роста», однако не приведены ни формулы для расчета скорости роста, ни результаты расчета скорости роста. На рисунке 30, который имеет название «Скорость роста культуры штамма *B. longum* subsp. *longum* GT15...» по оси Y отложены значения оптической плотности (OD). Несмотря на то, что зависимость оптической плотности от времени, как правило, достоверно показывает общий характер роста культуры, в тексте работы употребление термина «скорость роста» не совсем корректно.

Заключение. Представленная к защите работа соискателя **Дьячковой М.С.** выполнена на высоком научно-методическом уровне; ее содержание полностью соответствует указанной специальности 03.02.07 — генетика. Диссертационная работа аккуратно оформлена и, в целом, не вызывает серьезных замечаний. Основные разделы диссертации иллюстрированы высоконформативными рисунками и таблицами, облегчающими восприятие изложенного материала. Выводы адекватны представленным результатам. Автореферат отражает содержание диссертации в полной мере. Следует отметить научную обоснованность и адекватный выбор используемых автором методов и подходов, что позволило получить достоверные результаты. В работе представлены оригинальные научные данные, достоверность и новизна которых не вызывает сомнений. Основные результаты опубликованы в четырех рецензируемых международных изданиях, соответствующих перечню ВАК, а также в двух сборниках тезисов российских и международных конференций.

Таким образом, диссертация **Дьячковой М.С.** представляет собой законченную

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и изложенным в п. 9 Раздела II «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24 сентября 2013г. с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней». При этом ее автор, **ДЬЯЧКОВА Марина Сергеевна**, безусловно заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 — генетика.

Материалы диссертации были рассмотрены и обсуждены на заседании Отдела Молекулярной биотехнологии ИЦиГ СО РАН 03 декабря 2019 года (протокол №1).



кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
ИЦиГ СО РАН
/Брянская А.В./
+7 (383) 363-49-63*4120

03 декабря 2019 года