

Отзыв на диссертационную работу Дьячковой Марины Сергеевны

**“СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭВОЛЮЦИОННЫЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ
ГЕНОВ КЛАСТЕРА PFNA У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *BIFIDOBACTERIUM*”**

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.07 - генетика

Диссертационная работа М.С. Дьячковой посвящена фундаментальной проблеме отношений между комменсальной микробиотой и организмом-носителем (хостом), а именно изучению специфических механизмов адаптации *Bifidobacterium* spp. к условиям обитания в кишечнике животных. Выбор объекта исследования обусловлен тем, что среди анаэробных комменсальных микроорганизмов бифидобактерии колонизируют кишечник человека на ранних этапах жизни, конкурируют с патогенными бактериями за экологическую нишу, а также производят полезные для хоста вещества. Эти и некоторые другие факты делают исследуемую проблему чрезвычайно интересной не только с фундаментальной, но и практической точек зрения.

Гены кластера PFNA (объект исследования) предположительно участвуют в процессах коммуникации с факторами среды обитания, поэтому функциональная характеристика и анализ молекулярной эволюции генов данного кластера у представителей различных *Bifidobacterium* spp. может быть полезным в получении новых знаний о симбиотических отношениях бактерий и заселяемых ими живых организмов.

Представленная автором работа обладает научной новизной, углубляет и расширяет представления мирового научного сообщества о процессах коммуникации представителей хост-ассоциированных микробных сообществ и среды обитания. «Complete» сборка генома *B. angulatum* GT 102 имеет претензии на практическую значимость, так как обеспечивает формирование референсной последовательности для полногеномного секвенирования и

сборки геномов новых штаммов вида *B. angulatum* и близкородственных видов бифидобактерий.

Диссертационная работа включает разделы “Введение”, “Обзор литературы”, “Материалы и методы”, “Результаты и обсуждение”, “Заключение”, “Выводы” и “Список литературы”. Работа изложена на 129 страницах машинописного текста, включая 14 страниц Приложений, содержит 30 рисунков и 19 таблиц. Список цитируемых литературных источников включает 179 наименований, из которых 177 – на английском языке. Название диссертации полностью отражает ее содержание. Раздел “Введение”, в свою очередь, полностью соответствует названию и содержанию диссертации, а также содержит информацию необходимую для понимания поднимаемых в работе вопросов.

Глава “Обзор литературы” посвящена описанию современных достижений в исследовании *Bifidobacterium* spp., молекулярным механизмам, обеспечивающим коммуникацию представителей микробиоты с факторами занимаемой экологической ниши в организме хозяина, а также роли быстрой молекулярной эволюции генов в процессе адаптации к занимаемой экологической нише.

Раздел “Материалы и методы” содержит информацию об используемых в исследовании вычислительных и молекулярно-биологических методах. Диссидентом приведены схемы анализа данных, в которых были задействованы авторские скрипты, реализованные в среде R. Стоит отметить, что используемые методы молекулярной и вычислительной биологии дополняют друг друга, позволяя диссиденту с разных сторон взглянуть на проблему в рамках представленных на защиту тезисов.

В разделе “Результаты и обсуждение” представлены и обсуждены принципиально новые для мировой науки данные:

1) Гены кластера PFNA (pkb2, fn3, aaa-atp, duf58 и tgm) представляют собой эволюционно стабильную группу функционально связанных генов, обнаруживаемых совместно в геномах представителей различных видов рода *Bifidobacterium*, и транскрибируются в составе единого оперона.

- 2) Высокий уровень межвидовой дивергенции нуклеотидных последовательностей генов кластера PFNA обусловлен событиями продолжительного и эпизодического положительного отбора, провоцирующих быструю молекулярную эволюцию генов.
- 3) Быстрая эволюция последовательностей генов *rkb2* и *aaa-atp* обуславливает видоспецифичность киназно-субстратного взаимодействия у *B. longum* subsp. *longum* GT15.

Диссертант вполне логично и обоснованно интерпретирует собственные данные. Выводы диссертационной работы выглядят достоверными и естественно вытекают из собственных результатов автора, полученных как самостоятельно, так и в коллаборации с коллегами. Высокий класс диссертационной работы подтверждается публикационной активностью диссертанта, а также активной презентацией результатов исследований на отечественных и мировых научных конференциях. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации. Полученные экспериментальные данные и их интерпретация характеризует диссертанта М.С. Дьячкову как высококлассного специалиста в области генетики микроорганизмов.

Однако, при всех неоспоримых достоинствах представленной диссертационной работы автору стоит обратить внимание на некоторые аспекты:

- 1) Было бы уместно обсудить в какой-либо из частей диссертационной работы какие еще гены/кластеры генов могут участвовать в процессе адаптации *Bifidobacterium* spp. к условиям среды. По литературным данным они тоже подвержены положительному отбору? Если да/нет, то почему?
- 2) В рамках экспериментальной работы *in silico* проводились ли сравнения значения *w* генов СТПК со всем множеством коровых генов?
- 3) Проводилось ли выравнивание сначала на аминокислотном уровне с последующим переносом на нуклеотидный? Такой подход повышает точность выравнивания, которая важна для расчета *w*.

- 4) Из текста диссертации не понятно, какие именно субстраты были использованы для изучения видоспецифичности киназно-субстратного взаимодействия и вообще как эта процедура осуществляется? Что является субстратом? Что ферментом? Происходила ли адаптация к новым условиям лучше у видов с большим омегой? Из текста диссертации непонятно почему использовали только двух представителей рода *Bifidobacterium*?
- 5) стр 70 “п 3.3.3 Тестирование гипотез о наличии событий эпизодического положительного отбора в молекулярной эволюции последовательностей генов кластера PFNA.”

Применились ли поправки на множественное тестирование гипотез в данном разделе?

- 6) стр 71, цитата: “Нестрогие условия тестирования (табл. 7) применялись с целью уменьшить вероятность ошибки второго рода, т. е. вероятность ложноотрицательного результата при поиске редких событий”.

Какие статистические процедуры были использованы для снижения вероятности ложноположительных результатов? Если таковых нет, то чем руководствовался диссертант в выборе статистических тестов?

Также стоит отметить незначительные неточности в тексте диссертации, которые по-моему мнению должны быть исправлены:

- 1) Стр 9, строка 10 “стутусе → статусе”.
- 2) Стр 10 Цитата “Кишечной микробиотой человека называется совокупность микроорганизмов, населяющих пищеварительный тракт.” Уместнее сказать “Кишечной микробиотой человека называется совокупность микроорганизмов, населяющих кишечник”. Микробиота пищеварительного тракте включает не только микробиоту отделов кишечника, но и микробиоту желудка, пищевода и, вероятно, ротовой полости.
- 3) Стр 33, строка 13 “аализа” → “анализа”.
- 4) Стр 34 не введено сокращение ФП.
- 5) Стр 53 - не введен термин СТПК.
- 6) Рис 23 - На рисунке отсутствуют сайты с PP > 0.95 (красные), хотя присутствуют в легенде.

Заключение о научно-практической ценности работы и ее соответствие требованиям ВАК

Диссертационная работа Дьячковой М.С. представляет собой самостоятельный высококачественный научный труд исследующий фундаментальные вопросы, имеющие существенное значение для современной генетики, микробиологии и биохимии. Достоверность и обоснованность экспериментальных результатов не вызывает сомнений. Работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ и постановлению правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. "О порядке присуждения научных степеней", предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Дьячкова Марина Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - Генетика.

27 ноября 2019 г.

Научный сотрудник лаборатории биоинформатики Федерального государственного бюджетного учреждения "Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства", кандидат биологических наук



Олехнович Е.И.

Подпись руки Олехновича Е.И. заверяю,

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения "Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства", кандидат биологических наук

27 ноября 2019 г.

Кострюкова Е.С.



Адрес организации

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства"

Россия, Москва, 119435, Малая Пироговская, д. 1а

Телефон: +7 (499) 246-7721

Факс: +7 (499) 246-4409

E-mail: info@rcpcm.org