

УТВЕРЖДАЮ:

Директор

Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки

Института общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской Академии наук

д.б.н. А.М. Курдяев А.М.

«29 » октябрь 2018 г.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской академии наук

Диссертационная работа Чекалиной Марины Сергеевны «Сравнительный эволюционный и функциональный анализ генов кластера PFNA у представителей рода *Bifidobacterium» выполнена в лаборатории генетики микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.*

В период подготовки диссертации соискатель Чекалина Марина Сергеевна обучалась в очной аспирантуре в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук с 2014 по 2018 год. С 2015 года по настоящее время работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук в лаборатории генетики микроорганизмов в должности младшего научного сотрудника.

В 2014 г. Чекалина Марина Сергеевна окончила Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности генетика.

Чекалина М.С. сдала кандидатские экзамены в 2015 г. («Иностранный

язык (английский)» и «История и философия науки») и в 2018 г. («Генетика»), а также в 2018 г. итоговый государственный экзамен по совокупности учебных дисциплин.

Научный руководитель – профессор Даниленко Валерий Николаевич, д.б.н., заведующий лабораторией генетики микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

По итогам рассмотрения диссертации «Сравнительный эволюционный и функциональный анализ генов кластера PFNA у представителей рода *Bifidobacterium*» принято следующее **заключение**:

**Актуальность исследования:**

Актуальность темы диссертационной работы обусловлена важной ролью бифидобактерий в качестве компонента кишечной микробиоты человека и других животных. Бифидобактерии оказывают положительный эффект на здоровье и поддерживают нормальное функционирование организма хозяина. Механизмы воздействия и адаптации бифидобактерий к организму хозяина изучены пока весьма слабо. Гены кластера PFNA предположительно являются одной из систем, обеспечивающих данную коммуникацию. Поэтому исследование их функциональной активности и особенностей эволюции являются важной ступенью в понимании не только взаимодействия бифидобактерий с факторами занимаемой экологической ниши в организме хозяина, но и их значения в поддержании здоровья и гомеостаза организма человека и других носителей в целом.

**Научная новизна и практическая значимость исследования**

В рамках обсуждаемой 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 новых штаммов вида *B. angulatum* и близкородственных видов бифидобактерий.

Впервые проведена оценка влияния IL-6 как фактора иммунного ответа на рост и экспрессию генов *B. longum* subsp. *longum* GT15.

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.

Впервые был проведен количественный анализ экспрессии генов *fn3* в геномах ряда исследуемых штаммов бифидобактерий различных видов.

Впервые была изучена экспериментально и *in silico* транскрипционная организация кластера PFNA в геноме *B. longum* subsp. *longum* GT15. В результате анализа впервые 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 определены точки старта и терминации транскрипции.

Впервые была подтверждена гипотеза о коэволюции последовательностей генов *pkb2*, *fn3*, *aaa-atp*, *duf58*, *tgm* кластера PFNA бифидобактерий и проведено построение филогенетического дерева бифидобактерий на основе конкатенированных последовательностей вышеупомянутых генов.

Впервые в последовательности гена *tgm* экспериментально *in silico* было показано наличие сайтов, находящихся под давлением продолжительного положительного отбора во всех ветвях филогенетического дерева. В последовательностях генов *pkb2*, *fn3*, *aaa-atp*, *duf58*, *tgm* впервые было показано наличие сайтов, находящихся под давлением эпизодического положительного отбора во индивидуальных ветвях филогенетического дерева бифидобактерий. Таким образом, впервые было дано объяснение феномену быстрой эволюции последовательностей генов кластера PFNA бифидобактерий.

Сайты, на которые осуществляется давление отбора, были локализованы в первичной структуре белков, кодируемыми генами кластера. Данные сайты могут быть структурно или функционально значимыми, и, таким образом, представляют собой вероятных кандидатов для расширения структурно-функциональной аннотации вышеупомянутых белков.

### **Достоверность результатов проведенного исследования**

Диссертационная работа является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на очень высоком методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических и биоинформационических методов. Результаты, полученные в работе, достоверны и воспроизводимы.

### **Соответствие диссертационной работы избранной специальности**

Диссертационная работа соискателя Чекалиной М.С. соответствует избранной специальности 03.02.07 – генетика (согласно п. 12, 14, 17 Паспорта номенклатуры специальностей научных работников по данной специальности).

### **Личный вклад соискателя**

Все основные результаты были получены лично автором, либо при его участии в планировании и проведении экспериментов. Часть экспериментов была проведена совместно с сотрудниками лаборатории Генетики микроорганизмов. Эксперимент по влиянию провоспалительного цитокина IL-6 как фактора иммунного ответа на рост и экспрессию генов *B. longum* subsp. *longum* GT15 был проведен совместно с к.б.н. Климиной К.М. Эксперимент по изучению видоспецифичности киназно-субстратного взаимодействия на примере штаммов *B. longum* subsp. *longum* GT15 и *B. choerinum* DSM 20434 в ходе киназной реакции был проведен совместно с к.б.н. Мавлетовой Д.А. и к.б.н. Алексеевой М.Г на базе лаборатории изотопных методов Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

### **Ценность научных работ соискателя и полнота изложения материалов диссертации в них**

В целом полученные М.С. Чекалиной результаты обладают высоким

уровнем научной значимости. Они важны для понимания механизмов адаптации комменсальных микроорганизмов к занимаемой экологической нише в организме хозяина и роли систем адгезии и сигналинга в данном процессе. Подтверждение наличия событий положительного отбора в молекулярной эволюции генов, ответственных за коммуникацию с факторами внешней среды, представляют собой важную фундаментальную значимость.

По материалам диссертации опубликовано 4 печатные работы, из них 2 статьи в рецензируемых научных журналах, 2 тезиса докладов и материалов конференций. Основные результаты диссертации были представлены на российских и международных конференциях: 1. V съезд биохимиков России, Сочи-Дагомыс, Россия, 4-8 октября 2016 г.; 2. 7th International Human Microbiome Consortium Meeting, Killarney, Ireland, June 26-28, 2018; 3. 43rd FEBS Congress, Biochemistry Forever, Prague, Czech Republic, July 7-12, 2018.

Выполненная работа соответствует специальности 03.02.07 - генетика.

Диссертация Чекалиной М.С. «Сравнительный эволюционный и функциональный анализ генов кластера PFNA у представителей рода *Bifidobacterium*» является научно-квалификационной работой. Работа Чекалиной М.С. соответствует критериям, предъявляемым к диссертационным работам, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07- генетика.

Заключение принято на межлабораторном семинаре Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Присутствовало на заседании 26 человек, в том числе докторов биологических наук – 10 чел. Результаты голосования: «за» – 26 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 15 от 29 октября 2018 г.

Руководитель семинара,  
д.б.н., профессор

заведующий лаборатории генетических основ биоразнообразия

Муха Д.В.