

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Бондар Евгении Ивановны по кандидатской диссертации на тему «Аннотация генома и предсказание сайтов начала транскрипции для лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.)» по специальности 1.5.7 - генетика (биологические науки)

Диссертационная работа Бондар Евгении Ивановны посвящена исследованию структуры генома лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.). Как и у большинства хвойных голосеменных, геном лиственницы отличается огромным размером (более 12 млрд. п.н.), при этом не являющимся результатом полиплоидизации. Большую часть этого генома составляют различные повторы - это представляет особый интерес в плане эволюции генома в целом и мобильных элементов в частности, но при этом катастрофически усложняет сборку (и, как следствие, последующую аннотацию). Поэтому я с глубоким уважением отношусь к людям, которые решаются взяться за работу такого масштаба.

В первую очередь хочу отметить широту спектра результатов, представленных в работе. Это и аннотация генома (как структурная, так и функциональная), и сборка и аннотация митохондриального и хлоропластного геномов, и оценка времени встраивания LTR-транспозонов, и популяционные исследования. Все эти темы грамотно связаны в единый материал, и по каждой из них получены очень интересные данные, которые несомненно послужат основой для дальнейших исследований и будут полезны всем специалистам, работающим с геномами хвойных. Особо отмечу, что все полученные в работе данные выложены в открытый доступ.

В рамках работы представлена полученная впервые подробная структурная и функциональная аннотация генов для лиственницы сибирской. Сам пайплайн для аннотации собран из актуальных инструментов, для уточнения моделей были использованы данные транскриптома из нескольких тканей, полученные генные модели были верифицированы с помощью сравнения с набором генов арабидопсиса, более 70% предсказанных генов были идентифицированы и охарактеризованы. Более того, в этой части работы Евгения провела дополнительный анализ представленности функциональных категорий генов и показала возможность использования полученных результатов в сравнительных геномных исследованиях (например, очень интересные данные по представленности генов программируемой клеточной смерти у листопадных покрытосеменных и вечнозеленых голосеменных).

Также в ходе работы была создана библиотека повторов, которая позволит улучшить аннотацию геномов других голосеменных растений. С использованием полученных данных Евгения описала структуру LTR лиственницы, рассчитала предполагаемое время активного встраивания ретротранспозонов в геном (4-5 млн лет назад), и сравнила его с оценками для других видов, проливая свет на фундаментальные события эволюции геномов растений.

Помимо фундаментальных результатов, значительная часть работы посвящена прикладной задаче разработки системы микросателлитных маркеров для идентификации видов и генетического разнообразия различных видов лиственниц. При этом система была проверена на большом количестве образцов лиственницы сибирской, а также лиственниц Гмелина и Каяндера, и были получены оценки уровня популяционной изменчивости для выборок из каждой из этих популяций.

Отдельно хочется заметить, что Евгения критически подходит к интерпретации полученных результатов. Зачастую многие исследователи используют

биоинформатические инструменты как “черные ящики”, но в данном случае видно, что автор хорошо понимает принцип работы и ограничения используемых инструментов. Так, например, при оценке размеров интронов, говоря о том, что у листовницы интроны оказались намного короче, чем у других видов хвойных, она совершенно справедливо замечает, что это может быть следствием пороговых значений для используемого пайплайна, и не обязательно отражать естественные различия внутри групп.

Диссертационная работа построена по традиционному плану, изложена на 151 странице, содержит 26 рисунков и 13 таблиц. Список литературы включает 360 источников. По теме диссертации опубликовано 6 статей, из них 5 в международных рецензируемых изданиях с высоким импакт-фактором, причем в трех из них Евгения Ивановна является первым автором. Диссертация Евгении Ивановны представляет собой законченное научное исследование, оформленное в соответствии с требованиями ВАК. Работа включает в себя разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение» и «Выводы». Также работа сопровождается набором приложений, содержащих дополнительные графики, таблицы относительного содержания повторов в сборке *L.sibirica*, последовательности отобранных микросателлитных маркеров и другую важную информацию. В разделе с методами присутствует вся необходимая информация для оценки качества используемых подходов и воспроизведения полученных результатов. Все полученные результаты обсуждаются в соответствующих разделах главы «Результаты и обсуждение», а в главах «Заключение» и «Выводы» полученные результаты суммируются и обобщаются, а также описываются дальнейшие перспективы использования полученных данных.

Диссертационная работа Евгении Ивановны написана понятным языком, выдержана в едином стиле и хорошо оформлена. Выводы работы хорошо и четко сформулированы и соответствуют поставленным задачам. Большая часть полученных результатов сопровождается наглядными иллюстрациями. Автореферат соответствует содержанию диссертации, все ключевые результаты отражены в публикациях и тезисах конференций.

Однако к работе имеется ряд вопросов и замечаний:

1. Есть незначительное количество опечаток, стилистических ошибок и использования. Так, например, в тексте используются одновременно понятия “GC-skew” и “GC-асимметрия”, или “смысловой стрэнд” и “прямой стрэнд”. Я не вижу никаких проблем в использовании англоязычной терминологии, но хотелось бы, чтобы термины использовались единообразно во всем тексте работы.
2. Интересно, что вызывает такое низкое число обнаруженных универсальных ортологов по сравнению с геномами *Pinus lambertiana* и *Pseudotsuga menziesii*? Использовалась ли для оценки одна и та же версия базы BUSCO Embryophyta?
3. Митохондриальный геном автору удалось собрать в 9 контигов. Автор упоминает различные варианты организации митохондриальных геномов у растений, помимо единой кольцевой последовательности. Можно ли как-то финализировать митогеном в данном случае и выяснить его точную структуру?
4. Автор упоминает пользовательский R-скрипт для анализа результатов RepeatMasker, но на него нет ссылок. Возможно, для улучшения воспроизводимости имело бы смысл привести используемые в работе скрипты в приложении (если, конечно, это подразумевает формат диссертации).

Заключение

Все замечания, рекомендации и претензии по оформлению, приведенные выше, несколько не снижают хорошего впечатления от работы. По актуальности темы, объему и важности проведенных исследований и сделанных выводов рецензируемая работа, несомненно, полностью соответствует п.п.9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлениями Правительства РФ от 21.04.2016 г. №355, ред. от 01.10.2018 №1168, ред. от 20.03.2021 №426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Бондар Евгения Ивановна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - «генетика».


Райко Михаил Петрович,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории цитологии одноклеточных организмов
Института цитологии Российской академии наук.
Адрес института: 194064, Тихорецкий проспект 4, Санкт-Петербург.
+7 (812) 297-18-29
e-mail: mike.rayko@gmail.com


25.02.2024



ЗАВЕРЯЮ

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ


ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ РАН, к.б.н.
ТЮРЯЕВА И.И.