

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию
Лейна Семена Александровича

на тему: «Эволюция транскрипционной регуляции метаболизма углеводов
в бактериях»

по специальности «математическая биология, биоинформатика» на
соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Актуальность избранной темы. Стремительный рост числа полностью секвенированных геномов прокариот привел к возможности широко применять методы вычислительной биологии для решения задач метаболической и регуляторной реконструкции. Сравнительный анализ многих геномов позволяет не просто выявлять наличие и отсутствие уже известных систем организма, но и предсказывать новые функции. Данные подходы позволяют обрабатывать большие объемы биологической информации и благодаря развитию доказательной базы получать все более обоснованные утверждения о функциях белков и даже отдельных нуклеотидных последовательностей в геноме. Современные методы позволяют включить в доказательную базу множество независимой и разнородной аргументации, что делает полученные биологические знания все более достоверными.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. На основе биоинформатического анализа С.А. Лейн проследил эволюцию регуляторных систем катаболизма углеводов в трех масштабах на основе 110 геномов:

- 1) Локальные регуляторные системы катаболизма арабинозы AraR и N-ацетилгалактозамина AgaR.
- 2) Глобальный регулятор катаболизма углеводов в протеобактериях HexR.
- 3) Регуляторная сеть катаболизма углеводов в семействе бактерий *Vacillaceae*, состоящая из глобального регулятора CsrA и 42 локальных регуляторов.

Полученные в диссертации С.А. Лейна результаты хорошо обоснованы методами сравнительной геномики и затрагивают широкий круг вопросов, среди которых:

- обнаружение новых генов метаболизма и транспорта углеводов;
- поиск новых регуляторных сигналов и их связи с конкретными факторами транскрипции;
- пути эволюции как состава регулонов, так и генов метаболизма углеводов.

Достоверность и новизна. Для аргументации С.А. Лейн приводит следующие, хорошо зарекомендовавшие себя методы: 1) поиск и оценка гомологий в последовательностях нуклеотидов и аминокислот; 2) анализ

консервативности сцепленности генов на бактериальных хромосомах; 3) анализ профилей встречаемости ортологичных генов в геномах и 4) поиск и анализ регуляторных сигналов в группах геномов. Одновременное применение данных методов позволяет делать заключения, заслуживающие высокого доверия.

Диссертация состоит из четырех частей, содержащих результаты, представляющие значительный интерес. К основным результатам, показанным диссертантом можно отнести:

- тщательным образом идентифицированы и подтверждены сравнительным анализом мотивы сайтов связывания регуляторных белков;
- описаны варианты регулируемых метаболических путей и предсказаны функции новых генов;
- показаны новые неортологичные замещения основных генов пути катаболизма арабинозы – L-рибулокиназы (*araB-II*) и L-арабиноза изомеразы (*araA-II*), а также доказано, что наиболее растостраненным вариантом L-рибулокиназы в AraR регулоне является ген *araK*;
- найдены новые варианты пути утилизации N-ацетилгалактозамина и с большой степенью убедительности предсказаны функции транспортных систем во всех изученных геномах;
- доказано, что предыдущая аннотация фермента AgaI в качестве глюкозамин-6-фосфат деаминазы/изомеразы ошибочна и данную функцию выполняет белок AgaS;
- найден новый регулятор метаболизма углерода в протеобактериях HexR, причем в различных таксонах кардинальным образом меняется его функция от глобального регулятора метаболизма углеводов до локального регулятора пути Энтнера-Дудорова;
- найдено и подробно описано 11 новых факторов транскрипции в бактериях семейства *Bacillaceae*, относящихся к метаболизму углеводов. Также было найдено 11 новых мотивов сайтов связывания для ранее известных транскрипционных факторов. Данные результаты существенно расширяют понимание регуляторной сети в семействе *Bacillaceae*, при том, что *Bacillus subtilis* является одной из наиболее изученных бактерий.

Значимость для науки и практики. По каждой главе исследовательской части диссертации С.А. Лейна напечатана статья в международном рецензируемом журнале. Все результаты, изложенные в диссертации подробно представлены в данных статьях. Исключение составляет только глава 3 об исследовании эволюции AraR регулона. В соответствующей теме этой главы статье диссертанта (*Zhang и др., 2012*) описана реконструкция регуляторных взаимодействий только в бактериях рода *Clostridium* и *B. subtilis*. В случаях AgaR и HexR регуляторных систем в статьях диссертанта

присутствует не только биоинформатический анализ, но и экспериментальная проверка, полностью подтверждающая большинство сделанных диссертантом выводов. Статья соответствующая последней шестой главе гораздо шире описанной в диссертации темы и посвящена анализу эволюции сети транскрипционной регуляции 129 фактора транскрипции и 24 РНК-регуляторного элемента в бактериях семейства *Vacillaceae*. Таким образом можно заключить, что материал диссертации С.А. Лейна был во всей полноте представлен научному сообществу.

В целом, результаты работы С.А. Лейна имеют большое значение не только для общей теории регуляции, но и для практического применения. Углеводы являются дешевым сырьем и в настоящее время ведутся активные поиски расширения способов их применения, причем не только для производства биотоплива, но и для фармацевтической промышленности, создания новых пластмасс, конструкционных материалов и многих других областей. Микробиологическая переработка занимает лидирующее положение среди исследуемых методов. Новые знания о метаболических возможностях организмов, полученные в результате данной работы имеют большое значение для создания эффективных биотехнологических штаммов.

Замечания. Работа в целом выполнена на высоком научном уровне, однако, к ней имеется ряд замечаний по содержанию и оформлению:

1. В первой части диссертации дается подробный обзор методов сравнительной геномики, однако во второй главе описание использованных в работе методов (множественных выравниваний, построения филогенетических деревьев, поиска ортологов и т.д.) дано излишне кратко. Было бы уместно обосновать выбор конкретных подходов. Особенно это касается методов построения филогенетических деревьев.
2. Описания методов анализа регулонов и объединения их в CRON разбросаны по тексту, но практически только упомянуты в главе Материалы и методы. Следовало бы дать общее описание этих методов во 2 главе.
3. Недостаточно ясно выделены ранее полученные результаты, которые далее развиваются в настоящей диссертационной работе. В обзоре приведены ссылки на соответствующие работы, но явно такая информация не сформулирована.
4. Представленный на рисунке 3.5 сценарий эволюции AgaR регулона и соответствующие объяснения в тексте не очень ясно соотносятся, что затрудняет понимание рисунка.
5. В оформлении работы допущены незначительные поправки, возможно связанные с избранным форматом файла.

Отмеченные недостатки не снижают качество исследований и не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

Заключение. Диссертационная работа С.А. Лейна базируется на обширном экспериментальном материале, исследование проводится с

использованием широкого арсенала современных биоинформатических средств. Работа четко структурирована, написана хорошим и ясным языком и достаточно аккуратно оформлена. По каждой главе и работе в целом сделаны четкие выводы. Результаты сведены в таблицы и представлены в удобной для изучения и анализа форме.

Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Диссертационная работа отвечает критериям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор Лейн Семен Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «математическая биология, биоинформатика».

Официальный оппонент,
вед. науч. сотр., лаб. «Молекулярная вирусология
и онкология», ЦПИ СПбГПУ,
к.ф.-м.н.,
Мясникова Екатерина Марковна



Подпись:	<i>Е. М. Мясникова</i>
УДОСТОВЕРЯЮ	
Ведущий специалист	
по ходатайству:	<i>Гр/ И. А. Голубина</i>
« 29 » 09 2014 г.	