

Отзыв официального оппонента о диссертационной работе

Цой Ольги Владиславовны

«Эволюция систем регуляции транскрипции в геномах бактерий»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика

Важнейшей задачей современной геномики является изучение генных регуляторных сетей. Растущее количество геномных данных позволяет использовать для изучения транскрипционных регуляторных сетей бактерий методы сравнительной геномики. Эти методы реконструируют генную сеть с учетом данных родственных геномов и являются эффективным инструментом для детальной функциональной аннотации генов и метаболических путей у бактерий, а также для изучения роли этих путей в организме и исследования их эволюции.

В настоящий момент хорошо изучены системы регуляции у нескольких модельных организмов, таких как *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*. В то же время в базе данных Genbank содержится несколько тысяч полных последовательностей бактериальных геномов разной степени родства, и еще больше находится в процессе определения последовательности или аннотации. Изучение такого огромного числа геномов экспериментальными методами невозможно, в связи чем на первый план выходят методы биоинформатики, которые позволяют провести теоретическую реконструкцию транскрипционных сетей регуляции и спланировать направленные эксперименты для проверки гипотез о структуре сети. Работа О.В.Цой как раз посвящена реконструкции и анализу сетей транскрипционных регуляторных элементов в близкородственных геномах немодельных организмов с помощью методов биоинформатики. В рамках поставленной цели автором успешно выполнено предсказание регуляторных элементов транскрипционной сети *de novo* на примере пути утилизации этаноламина, а также изучена эволюция регуляторных сетей на примере контуров с упреждением.

Работа содержит традиционные разделы – «введение», «обзор литературы», «материал и методы», «результаты», «обсуждение» и «выводы», «список публикаций по теме диссертации». Результаты изложены в двух главах диссертации. Список литературы представлен 166 названиями. Работа изложена на 100 страницах, содержит 21 рисунок и 14 таблиц.

В обзоре литературы дано достаточно подробное описание принципов организации сетей регуляции транскрипции у бактерий и метода сравнительной геномики как подхода к идентификации регуляторных элементов транскрипционной сети. Описан путь утилизации этаноламина. Выполнена классификация контуров с упреждением по типу транскрипционных факторов, образующих контур, и сделано интересное и важное наблюдение, что у бактерий отсутствуют контуры, в которых оба транскрипционных фактора локальные. Вместе с тем, следует отметить, что по анализу свойств и поведения контуров с упреждением существует огромная литература и вызывает удивление, что автор ограничился рассмотрением всего нескольких работ десятилетней давности.

Раздел «Материалы и методы» традиционен: описано, какие геномы бактерий, базы данных и программное обеспечение были использованы в работе.

Глава 3 посвящена предсказанию регуляторных элементов транскрипционной сети на примере пути деградации этаноламина. Поиск новых регуляторных элементов в бактериальных геномах является очень сложной задачей. В самом простом случае существуют экспериментальные данные хотя бы для одного генома, опираясь на которые становится возможным изучение других, родственных организмов. Но более частыми бывают ситуации, когда ни локализация, ни структура регуляторных элементов не известна. В связи с этим следует отметить, что автор виртуозно применила методы сравнительной геномики и успешно выполнила поставленную перед ней задачу. Во-первых, были идентифицированы ортологи генов утилизации этаноламина и обнаружено, что существует два возможных пути катаболизма использования этаноламина, связанных с типом оперона. Первый, короткий, позволяет использовать этаноламин только в качестве источника азота. Второй, длинный, дает возможность использовать его и как источник азота, и как источник углерода. Очевидным достоинством является использование большого числа геномов бактерий. Во-вторых, автор исследовала эволюцию генов утилизации этаноламина и показала, что короткий оперон по всей видимости является предковым, из которого путем добавления новых генов образовался длинный тип оперона. Интересным и важным результатом является демонстрация того, что в ходе эволюции генов утилизации этаноламина произошло как минимум три события горизонтального переноса. И наконец, в-третьих, у бактерий *Enterobacteriales* и *Burkholderiales* был предсказан мотив участка связывания транскрипционного фактора EutR. В *Enterobacteriales* участки связывания EutR обнаружены в промоторной области семи оперонов, среди которых есть непосредственно гены утилизации этаноламина, а также гены синтеза кофактора основного фермента пути этаноламинлиазы – кобаламина. Этот принципиально важный результат устанавливает

связь между путями утилизации этаноламина и синтезом кобаламина за счет EutR-зависимой регуляции.

Четвертая глава посвящена эволюции регуляторных блоков на примере контуров с упреждением. Автор называет эти контуры “треугольник”, что неточно, поскольку не любой треугольник будет таким контуром. Вместе с тем, неправильное использование терминологии нельзя считать недостатком данной работы, поскольку в русскоязычной литературе контуры с упреждением до сих пор рассматривались только в технической литературе. В результате функциональной аннотации автор обоснованно заключила, что в контурах с упреждением перепредставлены гены, участвующие в производстве энергии, транспорте и метаболизме сахаров. Затем автор попыталась проверить гипотезу о более высокой консервативности регуляторных связей в сетях с упреждением по сравнению с прямыми взаимодействиями транскрипционный фактор – регулируемый ген. Подобные исследования проводились и ранее, однако в них эволюцию сетей с упреждением рассматривали как систему из двух транскрипционных факторов и регулируемого гена и не принимали во внимание эволюцию других важных элементов, таких как участки связывания транскрипционных факторов. Анализ эволюционной консервативности связей во всех типах контуров с упреждением привел к неожиданному результату: в штаммах *Escherichia coli* взаимодействия типа локальный транскрипционный фактор - ген-мишень чаще сохранялись в регуляторных контурах, чем вне их, на уровне порядка *Enterobacteriales* эти взаимодействия оказались консервативнее у прямых взаимодействий. Этот кажущийся несколько парадоксальным факт, тем не менее, можно объяснить, если учесть, что когерентные и некогерентные контуры характеризуются различным динамическим поведением, и, поэтому, их надо анализировать по-отдельности. И действительно, когда автор оценила эволюцию когерентных и некогерентных контуров первого типа, то оказалось, что в неконсервативность локальных взаимодействий у контуров с упреждением существенный вклад вносят взаимодействия внутри когерентного контура. Этот результат позволил автору обоснованно заключить, что разные типы контуров с упреждением эволюционируют по-разному.

По работе есть несколько существенных вопросов и замечаний:

1. В чем отличие динамического поведения когерентных и некогерентных контуров в свете публикаций, выполненных после 2002–2003 годов, и как с учетом этих данных можно объяснить более высокую консервативность локальных

взаимодействий у некогерентных контуров первого типа?

2. Было бы интересно оценить сколько контуров каждого типа, когерентных и некогерентных присутствует у штаммов E.coli и у бактерий Enterobacterialis. Какие типы контуров встречаются наиболее часто, а какие реже всего?

Есть замечания по оформлению и опечаткам. Эти огрехи несколько затрудняют чтение, но отнюдь не умаляют общего благоприятного впечатления от работы и не снижают ее научной значимости.

По актуальности, научной новизне, научно-практической значимости диссертация О.В.Цой «**Эволюция систем регуляции транскрипции в геномах бактерий**» является законченной научно-квалификационной работой и отвечает требованиям п.9 Положения "О порядке присуждения ученых степеней" N 842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор О.В.Цой, безусловно, заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.



Мария Георгиевна Самсонова.

д.б.н., заведующая лабораторией «Математическая биология и биоинформатика» Института прикладной математики и механики и профессор кафедры Прикладная математика Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный политехнический университет» (ФГАОУ ВО «СПбПУ»),
29, Политехническая ул., Санкт-Петербург, 195251 Россия

