

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Ершовой Анны Степановны

на тему: “Анализ систем рестрикций-модификации в полногеномном контексте”,

представленную на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 “математическая

биология, биоинформатика”

Работа А.С. Ершовой посвящена исследованию разнообразия, распространения и влияния на геном хозяев систем рестрикций-модификации (Р-М) прокариот. Изучение систем Р-М актуально как для сравнительной геномики, эволюционной биологии бактерий и архей, так и для экологической микробиологии, поскольку системы Р-М существенно влияют на взаимоотношения бактериофагов и бактерий в популяциях, не только защищая клетки от инфекции, но и превращая их в экологические ловушки, увеличивающие скорость элиминации фаговых частиц из экосистемы. Также активность систем Р-М влияет на горизонтальный перенос генов в популяции. Значительное увеличение числа секвенированных геномов прокариот позволило автору впервые провести широкомасштабный анализ систем рестрикций-модификации, закодированных в этих геномах. В процессе работы была апробирована методология анализа уровня представленности олигонуклеотидных мотивов в больших по объему массивах последовательностей, что представляет существенный интерес для решения иных задач за рамками биологии систем Р-М. Таким образом, тема диссертации является актуальной.

Выявление рассредоточенных систем Р-М расширяет представление о

механизмах эволюции систем Р-М. Ранее существование рассредоточенных систем было показано в литературе на единичных примерах. Алгоритм предсказания рассредоточенных систем Р-М может быть полезен при аннотации систем Р-М во вновь секвенированных геномах.

Выполненная в работе полномасштабная количественная оценка влияния Р-М на число сайтов в зависимости от типа системы потенциально открывает возможность оценивать в некоторых случаях срок жизни системы Р-М в геноме, находить следы потерянных систем Р-М. Избегание сайтов систем рестрикций-модификации ранее было показано для палиндромных сайтов на нескольких десятках геномов и систематического анализа этого явления не проводилось.

Результаты работы актуальны и для интерпретации данных SMRT-секвенирования позволяющего непосредственно определять метилированные основания ДНК.

Представленная работа может являться фундаментом для дальнейшего анализа коэволюции бактерий и бактериофагов, поскольку известно, что избегание сайтов систем Р-М является одной из защитных стратегий бактериофагов.

Диссертация построена по стандартному плану и включает в себя введение, 3 главы, выводы и список литературы. Общий объем диссертации, включая 15 рисунков и 9 таблиц, составляет 152 страницы, в том числе список литературы включает 264 источника.

Во введении дана общая характеристика работы, сформулированы цели и задачи исследования. Глава 1 представляет собой обзор литературы о структурно-функциональных особенностях систем Р-М и их влиянии на эволюцию и экологию прокариот, а также краткий обзор методов биоинформатики и сравнительной геномики.

Глава 2 включает описание материалов и методов, использованных в работе. Полученные результаты описаны в Главе 3, которая содержит два раздела. Первый

раздел посвящен генам одиночных эндонуклеаз рестрикции, найденных в полных геномах прокариот. Для некоторых одиночных эндонуклеаз рестрикции найдены гены соответствующих ДНК-метилтрансфераз, находящиеся от них на большом (сотни тысяч пар нуклеотидов) расстоянии. Для обозначения таких систем предложен термин рассредоточенные системы Р-М. Также в этой главе обсуждаются возможные причины возникновения рассредоточенных систем и одиночных эндонуклеаз рестрикции. Второй раздел содержит анализ недопредставленности сайтов узнавания систем рестрикции-модификации. Показано, что избегание сайтов наблюдается для классических систем типа II и зависит от времени жизни системы Р-М в геноме.

Результаты, описанные в диссертации, опубликованы в трех научных статьях в международных рецензируемых журналах из списка ВАК, в двух из которых диссертант является первым автором, а также в 14 тезисах сборников трудов конференций. Автореферат полностью отражает все основные выводы и результаты работы.

Диссертационная работа имеет некоторые недостатки. В обзоре литературы встречаются незаконченные мысли, которые автору, возможно, кажутся очевидными, но не являются таковыми для читателя. Например, на стр. 27 Р-М системы типа III охарактеризованы как «переходная форма между системами I и II типов», при этом автор не поясняет, что скрывается за этим утверждением. Автор несколько раз упоминает о феномене, когда приобретение Р-М системы клеткой сопровождается отсрочкой активации синтеза эндонуклеазы рестрикции на несколько поколений клеток, но не дает никакой информации о (возможных) механизмах такой регуляции. Наконец, при описании методов анализа встречаемости сайтов Р-М автор вводит без пояснения термин «число слова», который не вполне очевиден читателю.

На стр. 116 имеется не вполне понятное утверждение, что ограничение

латерального переноса генов внутри популяций *S. pneumoniae* за счет Р-М систем, у знающих последовательность GATC, способствует поддержанию генетического разнообразия. Это контр-интуитивное утверждение нуждается в пояснении т.к. в большинстве случаев принято считать, что адаптивное разнообразие должно увеличиваться в результате латерального переноса генов за счет образования новых комбинаций полезных мутаций и одновременной компенсации эффекта, известного как «храповик Мёллера».

Несмотря на неплохое качество текста и оформления, в работе встречаются опечатки и неудачно оформленные рисунки. Например, на рисунке 3.14 трудно понять, что означает прямоугольник, нарисованный поверх двух квадратов, значение осей приведено только в подписи к рисунку. Кроме того, указание процента недопредставленных пар, наблюдающихся при том или ином сочетании генов систем Р-М присутствует дважды — в явном виде надписанные цифры, а также цвет каждой клетки. С другой стороны, отсутствует полезная для понимания информация о размере каждой группы, за которой необходимо обращаться к таблице на предыдущей странице.

Крайне неудачны формулировки выводов 2 и 4, которые практически невозможно понять при первом прочтении.

Указанные недостатки не являются принципиальными и не снижают высокого качества диссертационной работы. Несомнены также квалификация автора как исследователя в области биоинформатики.

Таким образом, в заключение, хочу отметить, что диссертация Ершовой Анны Степановны по теме “Анализ систем рестрикции-модификации в полногеномном контексте” является законченным научно-квалификационным исследованием и полностью соответствует требованиям “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842. Анна Степановна заслуживает присуждения

ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09  
“математическая биология, биоинформатика”.

Доктор биологических наук,  
заведующий Лабораторией вирусов микроорганизмов  
Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральное государственное  
учреждение  
Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы  
биотехнологии» Российской академии наук  
117312 Российская Федерация  
г. Москва, пр-т 60-летия Октября, д. 7, корп. 2  
[letarov@gmail.com](mailto:letarov@gmail.com)  
+7 (499) 135-72-64



/Летаров Андрей Викторович/

«28 » сентября 2016 года

Подпись руки Летарова А.В.  
удостоверено: Жиг / Сударухекова Ел. Н./  
28.09.2016

