

Отзыв официального оппонента на диссертационную работу  
Суворовой Инны Андреевны  
**«Коэволюция транскрипционных факторов семейства GntR и их сайтов связывания»,**  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика».

Адаптация бактерий к меняющимся условиям окружающей среды осуществляется за счет изменения экспрессии генов. Таким образом, несмотря на относительную простоту организации, прокариотическим организмам необходимо иметь довольно сложные системы контроля и регуляции основных жизненных функций. Подобная регуляция экспрессии генов может осуществляться на разных уровнях (транскрипции, трансляции, посттрансляционной модификации), чаще всего – на стадии инициации транскрипции при помощи специальных белков, факторов транскрипции. За последние годы накопление большого объема данных о последовательностях геномов вследствие удешевления и повышения производительности технологий секвенирования привело к широкому и успешному использованию методов биоинформатики для исследования регуляции транскрипции. Сравнительно-геномный анализ регуляции экспрессии генов у различных бактерий также позволяет делать выводы об эволюции определенных метаболических систем и самих микроорганизмов в целом. Исследование ДНК-белковых регуляторных взаимодействий, таким образом, является важной и актуальной задачей современной биоинформатики.

Диссертационная работа Суворовой И.А. изложена на 132 страницах и построена по стандартной схеме, включающей следующие разделы: Введение, Обзор литературных источников, Материалы и методы, три главы с изложением полученных результатов, Выводы, Список цитированной литературы и Приложения. Список литературы включает 259 источников. Работа содержит 18 рисунков, 10 таблиц и 4 приложения.

Во введении обосновывается актуальность выбранной темы, сформулированы цели и задачи исследования, а также научная новизна и практическая значимость работы. Обзор литературы содержит несколько частей. Первая часть включает рассмотрение общих принципов регуляции экспрессии генов у прокариот. Вторая посвящена транскрипционным факторам и механизмам репрессии и активации транскрипции. В третьей части рассмотрены основные методы сравнительной геномики. Четвертая часть посвящена ДНК-белковым взаимодействиям и общей характеристике регуляторов семейства GntR и их мотивов связывания. Последняя часть обзора литературы содержит рассмотрение конкретных метаболических систем, регулируемых факторами транскрипции семейства

GnTR. В методическом разделе (Глава 2) описаны программы и методы, использованные для выявления регуляторных взаимодействий и реконструкции регулонаов, предсказания ДНК-белковых контактов, а также визуализации и статистического анализа полученных результатов.

Глава 3 диссертационной работы содержит результаты анализа корреляций аминокислотных остатков НTH-доменов транскрипционных факторов трех подсемейств семейства GnTR и нуклеотидных остатков соответствующих сайтов связывания, а также исследование особенностей структуры мотивов связывания и расположения сайтов в дивергонах. Автором показано, что большая часть предсказанных путем анализа корреляций ДНК-белковых контактов сходна для всех исследованных подсемейств семейства GnTR. Таким образом, хотя универсальных закономерностей, объясняющих все многообразие ДНК-белковых взаимодействий, по-видимому, не существует, подобные закономерности могут быть выявлены для достаточно крупных групп регуляторных белков – например, на уровне семейств. Знание предпочтительных ДНК-белковых взаимодействий имеет важное фундаментальное значение, а также может содействовать дальнейшим экспериментальным исследованиям. Также представляют интерес полученные в работе данные о кооперативных сайтах связывания в дивергонах и наличии дополнительных боксов у мотивов связывания – их точная роль в регуляции транскрипции может быть в дальнейшем изучена экспериментально.

Глава 4 посвящена исследованию регуляции метаболизма гексуронатов у Gammaproteobacteria эволюционно близкими факторами транскрипции семейства GnTR – UxuR и ExuR. В работе разделены их мотивы связывания, реконструированы соответствующие регулоны, а также построена модель их эволюции. Полученные результаты представляют собой хорошую иллюстрацию событий, происходящих после дупликации генов регуляторов – показана как совместная регуляция определенных генов, так и специализация родственных факторов транскрипции. Важное практическое значение могут также иметь сделанные в работе предсказания о новых членах гексуронатных регулонаов в различных бактериальных геномах.

В главе 5 рассмотрена регуляция метаболизма малоната и пропионата у Proteobacteria факторами транскрипции семейства GnTR. В ходе работы был идентифицирован ряд ранее не описанных регуляторов метаболизма малоната и пропионата, выявлены их мотивы связывания и реконструированы соответствующие регулоны. В работе показана вариабельность и разнообразие регуляции в различных таксонах и построены вероятные сценарии эволюции этих метаболических систем, включая случаи горизонтальных переносов, совместной регуляции разными факторами

транскрипции разных стадий одного и того же метаболического пути, а также замещения одного регулятора другим у разных бактерий.

Диссертационная работа Суворовой И.А. проведена на основе большого объема данных. Полученные результаты изложены достаточно четко и ясно, выводы, сделанные по каждой из глав, хорошо обоснованы. Сама диссертация написана хорошим литературным языком, не содержит ошибок и опечаток, аккуратно оформлена. Рисунки и таблицы выполнены тщательно, в подписях содержится вся необходимая информация для понимания того, что изображено на рисунках. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации. Достоверность результатов работы подтверждается рядом статей, опубликованных в международных рецензируемых журналах. Работа выполнена автором самостоятельно, на высоком научном уровне и с использованием современных методов биоинформатики. Автор владеет основными методами и инструментарием, примененными для получения, анализа и обработки результатов. Таким образом, высокая научная ценность диссертации, а также квалификация автора как исследователя не вызывают сомнений.

К сожалению, работа не лишена ряда недостатков. Имеется некоторое количество замечаний и вопросов:

Несомненным достоинством диссертации является то, что реконструированные автором регулоны доступны пользователям через Интернет – они размещены в базе данных RegPrecise ([http://regprecise.lbl.gov/RegPrecise/collection\\_tffam.jsp?tffamily\\_id=25](http://regprecise.lbl.gov/RegPrecise/collection_tffam.jsp?tffamily_id=25)). К сожалению, об этом факте лишь кратко упомянуто в главе 2 «Материалы и методы». Хотелось бы видеть более полное описание представленных в Интернете данных, полученных автором.

Литературный обзор дает полное представление о предмете исследования диссертации. К недостаткам следует отнести недостаточную степень иллюстрированности обзора, содержащего лишь два рисунка, что несколько затрудняет восприятие, в особенности, части, связанной с описанием пространственных структур и контактов в ДНК-белковых комплексах.

В диссертации для обозначения ДНК-связывающего домена leucine zipper используется русскоязычный термин «лейциновая застежка» (стр. 18) вместо более широко употребимого и привычного для слуха термина «лейциновая молния».

Вместо термина «аминокислотные остатки» белка в диссертации повсеместно используется термин «аминокислоты», который некорректно употреблять для обозначения мономеров полипептидной цепи.

Материалы и методы, использованные в диссертации, занимают всего 3 страницы текста. Лапидарность изложения характерна в целом для всего текста диссертации. При этом она является, скорее, достоинством, чем недостатком, поскольку способ изложения позволяет без погружения в излишние детали достаточно легко вычленить основные моменты, которые хотелось подчеркнуть автору.

Для лучшего понимания результатов, изложенных в разделе о выявлении скоррелированных нуклеотидных и аминокислотных позиций подсемейства FADR было бы полезно привести иллюстрацию с изображением структур комплексов FadR *Escherichia coli* и AraR *Bacillus subtilis* с выделенными ключевыми остатками, вовлеченными во взаимодействие с ДНК.

На стр. 45 написано: «Общая консенсусная последовательность сайтов связывания транскрипционных факторов подсемейства FADR представляет собой А/Т-богатый палиндром с высоко консервативными группами ТКГТ/АСМА (Рисунок 3)...». Достаточно трудно связать данный текст с рисунком 3, поскольку на рисунке данная последовательность представлена в виде вертикальной диаграммы LOGO с нуклеотидными остатками, обозначенными без учета вырожденности. Кроме того, ни в тексте, ни на рисунке не обозначены 3'- и 5'- концы последовательностей.

На стр. 72 имеется фраза о том, что UxuR-зависимая регуляция транскрипции уjjM и уjjN была экспериментально подтверждена у *E. coli*. Как следует из приведенной ссылки на собственную статью автора, а также из информации, представленной в выводе 5, имеются экспериментальные данные, полученные в Институте биофизики клетки РАН, подтверждающие полученные в работе предсказания. Хотелось бы понимать, какие именно экспериментальные данные получены, что именно и в какой степени они подтверждают. Наличие таких данных может свидетельствовать о важности проведенного исследования для экспериментальной биологии. К сожалению, автор не привел описания конкретных экспериментальных данных, а также указаний, каким образом полученные им результаты могут быть использованы для экспериментальной практики.

Название диссертации «Коэволюция транскрипционных факторов семейства GntR и их сайтов связывания» представляется не совсем удачным, поскольку имеет непосредственное отношение лишь к результатам Главы 3 диссертации, которых, впрочем, вполне хватило бы для полноценной диссертационной работы. Для диссертации в представленном виде название должно носить более общий характер.

Ссылки на источники литературы оформлены не по ГОСТу. Список сокращений имеется, но он почему-то находится на 89 странице, после выводов, хотя должен находиться перед «Введением».

Следует подчеркнуть, что указанные недостатки носят непринципиальный характер и не снижают общей высокой оценки представленной работы.

Диссертационная работа Суворовой И.А. «Коэволюция транскрипционных факторов семейства GntR и их сайтов связывания» является самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной для биологии проблемы исследования семейств прокариотических транскрипционных факторов методами сравнительной геномики. По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, объему и методическому уровню работа полностью удовлетворяет требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Соискатель Суворова И.А. несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – «математическая биология, биоинформатика».

Карягина-Жулина Анна Станиславовна,  
доктор биологических наук, профессор,  
главный научный сотрудник лаборатории  
биологически активныхnanoструктур  
ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский  
центр эпидемиологии и микробиологии имени  
почетного академика Н.Ф.Гамалеи»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18;  
тел. +7(926)4955132;  
akaryagina@gmail.com



Подпись д.б.н. проф. Карягиной-Жулиной А.С. заверяю.  
Ученый секретарь ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи»  
 Минздрава России,  
к.б.н. Кожевникова Л.К.