

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ

**ИНСТИТУТ
ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ
И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ
МЕДИЦИНЫ**

**СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИХБФМ СО РАН)**

Просп. Ак. Лаврентьева, 8, г. Новосибирск, 630090
тел. (383) 363-51-50
факс (383) 363-51-53
E-mail: niboeh@niboeh.nsc.ru
http://www.niboeh.nsc.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам.директора Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт химической биологии и
фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии
наук,
кандидат биологических наук,



22.08.2017

№ 15309- *22-07/55*

В.А.Рихтер

На № _____

ОТЗЫВ

Ведущей организации - Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук - на диссертационную работу **Шмакова Сергея Анатольевича** «РАЗРАБОТКА БИОИНФОРМАТИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ CRISPR-CAS СИСТЕМ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Актуальность темы диссертации.

CRISPR-Cas системы были открыты достаточно недавно, но быстро набрали популярность, когда было показано применение CRISPR-Cas эффекторных комплексов для задач редактирования геномов. Редактирование генов и геномов – одно из наиболее актуальных и перспективных направлений современной молекулярной генетики и клеточной биологии. Данные, получаемые в ходе таких исследований, необходимы не только для расширения наших фундаментальных знаний об устройстве и функционировании геномов, но и для выяснения роли генов в развитии заболеваний человека и совершенствования биотехнологий. Однако редактирование геномов является не единственным способом применения CRISPR-Cas эффекторных комплексов. Они могут быть использованы для специфичного распознавания цели, например, для активизации или репрессии транскрипции, для создания логических схем, которые могут использоваться для создания каскадов активации/репрессии генов и пр.

Целью работы Шмакова Сергея Анатольевича была оценка разнообразия CRISPR-Cas систем второго класса – систем с большим (> 500 аминокислот) одноблоковым эффекторным комплексом и обнаружение новых CRISPR-cas генов второго класса или вариантов известных белков среди бактерий и архей, используя тщательное исследование доступных геномных и метагеномных данных.

Для достижения этой цели был разработан биоинформатический подход, который использует ключевые компоненты CRISPR-Cas систем для поиска элементов, ассоциированных с ними. Для выполнения данного исследования были поставлены задачи определения затравок – Cas1 или CRISPR позиции в бактериальных или архейных геномах и дальнейшего использования их в качестве якорных позиций в геноме, определения открытых рамок считывания (ORFs) вокруг якорей, определения типов CRISPR-Cas систем для cas генов вокруг затравок, кластеризации всех белков и ручного курирования белковых кластеров, выделения и биоинформатической характеристики списка кандидатов путём определения белковых доменов в кандидатах, которые необходимы в CRISPR-Cas эффекторных комплексах.

Структура и содержание работы.

Диссертация состоит из введения, трех разделов, заключения, результатов исследования и списка использованной литературы. Работа изложена на 104 страницах, содержит 16 рисунков и 2 таблицы, и построена по традиционному плану.

Во введении автор достаточно ясно описывает актуальность, цели и задачи исследования, а также научную новизну и практическую значимость работы.

В разделе «Обзор литературы», занимающем 20 страниц, обсуждены CRISPR-Cas системы, механизм их действия, обнаружение и характеристика, классификация, происхождение и прикладное применение. В целом обзор литературы содержит достаточно информации, необходимой для дальнейшего осмысления и оценки полученных в диссертационной работе результатов.

Раздел «Материалы и методы» позволяет оценить Шмакова Сергея Анатольевича как специалиста высокого класса, владеющего широким спектром современных методов исследования в области информатики и математической биологии.

Раздел «Результаты и обсуждение». В ходе работы был разработан и применён биоинформатический подход для поиска новых CRISPR-Cas систем 2 класса в геномных и метагеномных прокариотических базах данных. В результате было обнаружено шесть новых CRISPR-Cas систем 2 класса, была предложена обновлённая классификация CRISPR-Cas систем 2 класса, которая включает 6 новых обнаруженных систем. Была дана исчерпывающая

оценка разнообразия CRISPR-Cas систем 2 класса, показывающая распространение и дающая количественную оценку этих систем среди бактерий и архей. Высказаны гипотезы о возможных путях появления CRISPR-Cas систем 2 класса, показывающие развитие от транспозонов до развитых (или промежуточных для типа V-U) CRISPR-Cas систем. Были предложены возможные биотехнологические применения, включая редактирование геномов, для новых CRISPR-Cas систем.

Список литературы состоит из 211 цитируемых источников, что характеризует высокую профессиональную квалификацию автора.

Материалы собственных исследований представлены содержательными таблицами и рисунками. Прделан огромный объём методически сложной работы, освоено и развито множество методов биоинформатики и математической биологии. Выводы и результаты, представленные диссертантом, отражают полученные данные и соответствуют поставленным целям и задачам.

В целом, принципиальных замечаний к работе нет. Работа заслуживает высокой оценки. Автореферат отражает основные положения диссертации.

Значимость результатов для науки и практики.

Таким образом, работа С.А.Шмакова представляет несомненный теоретический и практический интерес, поскольку в ходе ее были обнаружены новые CRISPR-Cas системы: Тип V-B, Тип V-C, предполагаемый подтип Type V-U содержащий RuvC нуклеазный домен. Также был обнаружен полностью новый Тип VI, который включает HEPN домен, в типе VI было выделено 4 подтипа: Тип VI-A, Тип VI-B и Тип VI-C. Новые CRISPR-Cas системы могут использоваться в различных прикладных областях, где специфичность к целевой ДНК или РНК необходима, например, для задач редактирования геномов. Новые подтипы пятого типа отличаются от хорошо изученного CRISPR-Cas Тип II (Cas9) другой архитектурой, а также отличаются от недавно функционально охарактеризованного V-A типа (Cpf1) за счет присутствия tracrPНК в V-B типе, что может помочь занять нишу среди инструментов для редактирования геномов. РНКазные домены в VI типе могут быть использованы для детектирования молекул РНК, также VI тип может быть использован для понижения экспрессии генов наподобие РНК интерференции. Маленький размер предсказанных эффекторных белков в V-U типе может позволить размещать их в более компактные средства доставки (например, вирусные капсиды), что даст определённое преимущество для редактирования геномов. Также все обнаруженные системы обладают уникальной специфичностью распознавания цели и разнообразным PAM мотивом, могут быть

использованы для высокоспецифичного определения молекул нуклеиновых кислот, для детектирования вирусов, патогенных бактерий, определения раковых клеток и т.д.

Заключение.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что представленная к защите диссертационная работа Шмакова Сергея Анатольевича «РАЗРАБОТКА БИОИНФОРМАТИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ CRISPR-CAS СИСТЕМ» является законченным научным исследованием в рамках поставленных задач, в котором получены новые данные, представляющие интерес для науки. Диссертация написана автором самостоятельно, содержит новые данные и положения, выдвигаемые для публичной защиты. Основные данные диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях, включенных в список ВАК. Таким образом, по объёму, оформлению и качеству полученных данных представленная диссертационная работа соответствует основным квалификационным критериям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. №842, утвержденного постановлением Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Шмаков Сергей Анатольевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Отзыв на диссертационную работу С.А. Шмакова подготовлен заведующим лабораторией стволовой клетки ИХБФМ СО РАН профессором Закияном Суреном Минасовичем, заслушан, обсужден и утвержден на заседании межлабораторного семинара по биоорганической химии, биохимии и молекулярной биологии ФГБУН ИХБФМ СО РАН 16 августа 2017 г., протокол № 210.

Зав. лабораторией стволовой клетки
ФГБУН ФИЦ Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН,
профессор, доктор биологических наук

Закиян Сурен Минасович

630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, д.8,
рабочий телефон (383)363-49-37
e-mail: zakian@bionet.nsc.ru

Подпись Закияна С.М. заверяю
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН, к.х.н.



Пестряков П.Е..