

Федеральное государственное учреждение
**«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»**

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 954-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru

01.04.2018 № 85 - 01 - 19 / 274

На № _____

Г _____ Т _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора по науке
Федерального государственного
учреждения «Федеральный
исследовательский центр
«Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии
наук» (ФИЦ «Биотехнологии» РАН)
д.б.н.



Н.В. Пименов

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу

Гарушняц Софьи Константиновны на тему «Структура и эволюционная динамика прокариотических сообществ необычных местообитаний», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика

Актуальность темы исследования. Прокариоты являются самыми древними, распространенными и метаболически разнообразными организмами нашей планеты. Классические методы микробиологии, базирующиеся на выделении чистых культур позволяют исследовать только ~1% всех известных нам прокариот. Это с одной стороны связано с несовершенством культивационных подходов и наших знаний о микроорганизмах в целом, а с другой стороны с неразрывными связями между организмами в сообществах препятствующими их культивирование по одиночке. Остальные 99%, так называемая микробная темная материя (microbial dark matter), можно изучать только посредством подходов, не связанных с выделением чистой культуры, либо

вообще не связанных с культивированием. Этому способствует бурное развитие методов молекулярной биологии (в первую очередь современные методы секвенирования) и биоинформатики, а также экспоненциальное накопление данных, являющееся следствием этого развития. Работа Софьи Константиновны, базирующаяся на этих подходах, таким образом, находится на острие развития современной биологии. Каждое из выбранных четырех направлений исследования (микробные топливные элементы, МТЭЛ; горизонтальные переносы у архей; реконструкция метаболизма эндосимбионтов простейших и изучение наборов рибосомальных белков у микроорганизмов с редуцированными геномами) является по своему уникальным и актуальным.

Новизна исследования, степень обоснованности полученных результатов и выводов.

Все 4 направления исследований данной работы обладают высокой степенью новизны. Так, микробные сообщества МТЭЛ изучаются уже достаточно давно, однако обычно на гораздо меньших по объему ячейках и главное практически все известные работы посвящены изучению только таксономического состава, тогда как в данной диссертационной работе, благодаря данным полнометагеномного секвенирования, была проведена достаточно достоверная оценка функциональной роли доминирующих таксонов, чего невозможно добиться просто экстраполируя результаты профилирования по какому-нибудь таксономическому маркеру (например, гену 16S рРНК). Исследование горизонтальных переносов в археи *Methanosarcinaceae* сильно изменило имеющиеся представления об этом процессе – переносов оказалось прилично меньше, кроме того было показано, что гены в основном переносятся индивидуально и без соответствующих транскрипционных регуляторов. Исследование геномов *Holospira*, а в данной части автором был проведен не только анализ, но и *de novo* секвенирование и сборка генома одной из голоспор, позволило оценить их метаболизм, а точнее практически полное его отсутствие и предсказать основной энергетический субстрат, который они получают от хозяина (правда к этому выводу у нас имеются претензии). Наконец, были выявлены интересные особенности наборов рибосомальных белков у микроорганизмов с маленькими геномами, выявлена зависимость количества таких белков от размера генома, а также основные признаки, делающие рибосомальные белки более стабильными или наоборот – лабильными с точки зрения их присутствия в составе рибосомы.

К обоснованности выводов есть небольшое замечание. Всего выводов четыре, что соответствует количеству направлений работы и количеству задач. При этом каждый вывод включает в себя много результатов и выглядит немного размытым. Хотелось бы более конкретных выводов, благо, в работе было получено много значимых результатов.

Возможно, число выводов можно было бы увеличить, разграничив самые важные результаты и их четкое обоснование.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации стандартна за исключением того, что к каждой из четырех глав (направлений исследования) отдельно прописаны методы и результаты. При желании между данными направлениями можно найти логические связи, но, тем не менее, в целом нельзя сказать, что они сильно согласованы друг с другом. Отдельное написание методов для каждой главы только подчеркивает эту разобщенность, хотя для читателя это может быть удобным. Объем диссертации - 137 страниц, она включает 27 рисунков, 13 таблиц и внушительный список литературы, состоящий из 326 источников. Текст написан хорошим языком в нем практически нет опечаток и пр. ошибок и крайне мало сленга.

Введение и обзор литературы достаточно хорошо раскрывают тематику исследования, однако написаны в несколько абстрактном стиле, в некоторых случаях не хватает деталей или более четких определений. Например, в литературном обзоре говорится о «высоко/низкомолекулярных», а также о «крупных» органических соединениях, что заставляет гадать что же конкретно автор имел в виду. Почему, например, для «крупных» нельзя указать для привязки хотя бы класс соединения, например: «сахаров и других крупных органических соединений» или «С3-С5 органических кислот, спиртов, а также сахаров и др. крупных органических соединений». На странице 31 появляется (и больше в тексте нигде не встречается) некий «Комплексный метагеномный анализ». В целом конечно понятно, что это такое, но было бы правильнее придерживаться более четких формулировок, тем более, что автор сам их приводит ниже в методах. Некоторые формулировки появляются из ниоткуда и не сопровождаются пояснениями при первом упоминании, например:

Стр. 5. Во введении. Необычные местообитания. Что это такое – откуда они взялись, почему необычные?

Стр. 6. Немодельные организмы/бактерии – что это?

Стр. 9. Кто такая голоспора? Откуда она взялась? В первом упоминании надо давать латинское название и хотя бы предложение текста кто это и почему это здесь.

Объекты и методы исследования. В разделе «Актуальность темы исследования» введения есть 4 абзаца. В первом приводятся общие слова о прокариотах и возникают из ниоткуда необычные местообитания (одной фразой), в остальных трех приводятся преимущества методов сравнительной геномики. Таким образом, совершенно не

раскрываются объекты исследования и их актуальность. Там же нет ссылок, что странно. Следующий раздел «Степень разработанности темы» декларирует значимость геномных и метагеномных подходов на нескольких «интересных» (авт.) примерах. При этом, к сожалению, совсем не говорится о том, что эти примеры и есть объекты/задачи, рассматриваемые в данной работе. И, наконец, только в Целях и Задачах появляется хоть какая-то информация о самой работе.

К самим формулировкам задач также есть несколько замечаний и вопросов (все они опять-таки связаны в первую очередь нечеткостью и размытостью определений):

1) изучение динамики бактериальных сообществ микробных топливных элементов, характеризующихся стабильными и контролируемыми условиями;

Какой динамики? Динамики изменения состава сообществ? Потребления субстрата? Синтеза продуктов? Генерации потенциала? Всего этого? Задача должна быть четкой!

3) метаболическая реконструкция редуцированных симбиотических организмов и анализ механизмов их приспособления к узким нишам внутри организма-хозяина;

Редуцированных организмов (что-то не очень конкретное и требующее пояснений) или м.б. все-таки речь идет о редуцированном метаболизме и/или редуцированных геномах? Узкие ниши? Что это? Экологические ниши? Физически небольшие объемы?

4) описание изменений функциональных систем клетки, сопряжённых с приспособлением к симбиотическому образу жизни, на примере рибосомы.

Тоже что-то абстрактное. Задача должна быть четкой!

Стоит отметить, что необходимая конкретика, касающаяся объектов и задач исследования, все-таки появляется в разделе «Положения, выносимые на защиту».

Использованные в работе методы не вызывают нареканий и спектр подходов и правомерность их применения в том или ином случае обоснованы. Тем не менее, к этому разделу тоже есть ряд вопросов и комментариев. В первую очередь текст, посвященный методам, страдает той же болезнью, что и весь остальной текст – он местами недостаточно точен и не содержит необходимых подробностей. Так на стр. 32 написано, что «*Качество выделения ДНК было оценено при помощи спектрофотометрии*». Поскольку вариаций может быть довольно много, то возникает вопрос каким конкретно методом и на каком приборе? Еще один скорее комментарий, а не замечание связан с тем, что в работе используется довольно много параметров, выбор которых не был объяснен. Например, не смотря на то, что в целом пороги (identity %, coverage и bitscore), взятые для приписывания функции тем или иным белкам выглядят разумными, не понятно по какому

принципу они были подобраны. Например, почему 45% identity? Или на стр. 98 указано, что «Мы считали, что атомы контактируют, если расстояние между ними было меньше 5Å.» Почему 5 ангстрем? Или стр. 99: «Мы считали, что у данной бактерии есть последовательно анти-Шайна –Дальгарно, если на 3'-конце 16S рРНК имела консенсусная последовательность CCUCCU.» Последовательности Ш-Д могут отличаться у разных таксонов. Почему была взята эта (из *E.coli*, я полагаю)? Наверное, она подходит и для Риккетсий (все они – протеобактерии), но хотелось бы увидеть подтверждение этого в тексте или в виде ссылки.

Что неудивительно для биоинформационной работы, в литературном обзоре есть несколько неточных формулировок, касающихся применимости метагеномных подходов как альтернативы «мокрым экспериментам»:

Стр. 5 “Накопленные к настоящему времени данные о геномах и генах микроорганизмов позволяют реконструировать метаболизм бактерий и архей без дорогостоящих экспериментов”.

Звучит так, как будто – это вещь в себе и как противопоставление «мокрому» эксперименту. Все-таки важно не забывать, что реконструкция метаболизма *in silico* – это предсказание (с разной степенью достоверности), которому во многих (если не всех) случаях очень не помешала бы последующая экспериментальная проверка.

Стр. 14. «Изучение состава и метаболических возможностей сообществ микроорганизмов **стало возможно** благодаря развитию технологий секвенирования и появлению метагеномного подхода.» и Стр. 18. «Отдельной интересной задачей является изучение динамики микробных сообществ. Такие исследования также **стали возможны** благодаря развитию метагеномики.»

Не изучение, а более полное, полноценное изучение. И не «стали возможны», а «стали намного более полноценными» т.к. такие исследования проводились и ранее.

Стр. 20. «Альтернативный <использованию чистых культур> подход заключается в использовании методов метагеномики.»

Как метагеномика может быть альтернативой использования чистой культуры? Это как сравнивать теплое с мягким. Альтернативой применения чистой культуры является применение консорциума, как искусственного (созданного из чистых культур), так и естественного – взятого из какого-то местообитания. И метагеномика является мощным инструментом как для выбора естественного консорциума, так и для его контроля в биореакторе.

Наконец, возникает вопрос почему методы функционально аннотации, использованные в разных главах, так сильно отличаются? То же и для филогенетического анализа. В каких-то случаях это выглядит обоснованным, но не во всех.

Очевидно, что все изложенные выше замечания и вопросы не снижают общего качества использованных методов, а скорее относятся к их описанию в тексте. По-видимому, автор посчитал некоторые детали мелкими и неважными и решил их не указывать.

Основные научные результаты и их значимость для науки и практики.

Основные результаты хорошо изложены как в «обсуждениях результатов» соответствующих разделов (р. 3.3, 4.3, 5.3), так и собраны в заключении и выводах. Их новизна и фундаментальная значимость не вызывают сомнений. Практическая значимость тоже очевидна и заключается как в общей ценности разработанных (или модифицированных) пайплайнов метагеномного анализа сообщества или оценки горизонтальной эволюции у прокариот, которые могут быть использованы в дальнейшем как в фундаментальной, так и в прикладной науке (например, при исследовании микробиома человека), так и в более частных случаях, например, для оптимизации выработки тока в МТЭ.

По теме диссертации опубликовано три статьи в международных научных журналах, входящих в основные библиометрические базы данных (PubMed, WoS и Scopus), два из которых входят в Q1 в своих областях именно в этих двух Софья Константиновна является первым автором:

1. Kiseleva L.*, Garushyants S. K.*, Ma H., Simpson D. J. W., Fedorovich V., Cohen M. F., Goryanin, I. Taxonomic and functional metagenomic analysis of anodic communities in two pilot-scale microbial fuel cells treating different industrial wastewaters // *Journal of Integrative Bioinformatics*. 2015. Vol. 12, № 3. P. 1–15.
2. Garushyants S.K., Kazanov M.D., Gelfand M.S. Horizontal gene transfer and genome evolution in *Methanosarcina* // *BMC Evolutionary Biology*. 2015. Vol. 15, № 102. P. 1-14.
3. Garushyants S.K., Beliavskaia A. Y., Malko D. B., Logacheva M. D., Rautian M. S., Gelfand M. S. Comparative genomic analysis of *Holospira* spp., intranuclear symbionts of *Paramecia* // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. P. 1-11.

Кроме того, результаты работы опубликованы в сборниках тезисов пяти международных и российских конференций. Таким образом, публикационная активность подтверждает научную значимость данной работы. Тем не менее, к представленным результатам возникло несколько вопросов и комментариев:

Стр. 38-39. Откровенно говоря, глядя на приведенные данные сложно говорить о том, что «в целом состав сообщества был значительно более разнообразен» в инокуляте из японского (JP) ила. Да, некоторые различия есть, это далеко не «значительно более разнообразен». Еще сложнее говорить о том, что «Оба исходных сообщества претерпели значительные структурные изменения после 70-90 дней работы МТЭ». По-моему, все как раз ровно наоборот. В UK протеобактерии выросли на 8%, фирмикуты на 7%, актинобактерии на 1%. Во втором образце бактериодеты выросли на 3%, фирмикуты на 4%, археи на 4%, протеобактерии уменьшились на 8%. Какие у автора есть основания считать это сильным изменением? Кстати, а были ли повторности?

Стр. 38. «Кроме того, среди идентифицированных организмов был найдена архея *Methanothermobacter*, для которой ранее было показано, что ее присутствие повышает уровень производимого электричества в смешанных биоплёнках [237].».

Я в данной статье не нашел ничего похожего на приведенное утверждение. Единственное упоминание там *Methanothermobacter* приводится в контексте возможности непосредственного переноса электронов от клетки бродильщика на клетку метаногена (этому вопросу посвящено большое количество публикаций т.к. взаимодействие этих двух групп микроорганизмов давно известно и важно, как с научной, так и с прикладной точки зрения). Более того, данное утверждение кажется неверным и с теоретической точки зрения, разве что оно не включает в себе какие-то тонкие нюансы, связанные с движением веществ внутри сложных сообществ (которые надо было тогда указать). Метаноген забирает у бродильщика электроны в «чистом виде» или в виде восстановленных или не полностью окисленных соединений (водород, ацетат - *Methanothermobacter* как раз является гидрогенотрофным метаногеном), таким образом, он конкурирует с микроорганизмом, который смог бы взять эти электроны и передать их на анод). То есть, увеличение количества метаногенов должно приводить к снижению эффективности МТЭ. Грубо говоря – либо электричество, либо метан.

Стр. 43. И Рис. 2.5. Во-первых, не стоит давать конкретных узких названий ферментов, таких как эндоглюканаза и особенно амилазному ряду – альфа-амилаза и т.д. так как предсказать их точную функцию довольно сложно и в данной работе, я полагаю, этим не занимались. Правильно просто указать GH семейство по CAZy и предположительные функции. Во-вторых, в целом сейчас известно намного больше семейств гликозидаз (и не только гликозидаз), участвующих в разложении целлюлозы и ее производных и крахмала и его производных и правильного анализа тут надо было проскринировать метагеном против специальной базы т.н. CAZymes. Для этого, например, существует сервис DbCAN. В-третьих, многие из этих ферментов обратимы и *in vivo* могут участвовать в обратной

реакции – синтезе своих полисахаридов, как внутриклеточных запасных, так и внеклеточных – матрикса, клеточной стенки (у бактерий) и т.д. В-четвертых, крайне сомнительна возможность разложения внешнего крахмала у метаногенных архей. Скорее всего тут имеет место белки синтеза (и гидролиза) универсального протектора – трегалозы или запасного вещества – аналога гликогена.

Стр. 43. «Непрямой способ оценить вклад разных микроорганизмов в разложение белков в среде – это найти группы с наибольшим количеством транспортёров аминокислот. В обоих МТЭ наибольшее количество таких транспортёров найдено у представителей *Clostridia*. Дополнительно в МТЭ УК эта функция частично осуществляется за счет *Lactobacillus*, а в МТЭ JP – за счет *Delta*- и *Gamma*proteobacteria и частично архей».

Такой подход видится неправильным. В микробных сообществах есть полно оппортунистов, которые сами не могут разлагать высокомолекулярные полимеры (или делают это хуже чем «специалисты»), но которые обладают по меньшей мере не худшими системами импорта продуктов гидролиза.

Я согласен, что предсказание функции протеаз – нетривиальная задача т.к. их довольно много внутриклеточных (шапероны и т.д.), но тут как раз сильным аргументом была бы фильтрация по предполагаемой внеклеточности/внутриклеточности т.к. внеклеточных протеаз *a priori* намного меньше и разнообразие функций внеклеточных протеаз также невелико. Т.о., с учетом того, что сообщество богато пептидной/белковой органикой, всем обнаруженным внеклеточным протеазам можно было бы с высокой степенью достоверности приписать роль разложения белков/пептидов из раствора.

Стр. 51. «всего 736 наборов деревьев».

Во всех 736 деревьях вручную (глазами) оценивался кластер, куда попал соответствующий с ГОБ?

Стр. 51. «Если белки *Methanosarcina spp.* оказывались в одной кладе с бактериальными белками, но не с другими белками архей, соответствующие гены мы считали горизонтально перенесёнными из бактерий.»

А как учитывались случаи двойного переноса: архея -> бактерия -> архея? Смотрели ли вы окружение этой бактериальной клады, в которую попали архейные белки? Тот же вопрос к р. 3.2.5, где оценивались конкретные доноры генов. Туда же дополнительно – что по мнению автора важнее знать – конечный донор гена или всю (ну или как можно более полную) его горизонтальную эволюцию? Пробовали ли оценить ГП по каким-то другим признакам, например, TETRA? (В обсуждении на странице 66 частично даны ответы на эти вопросы).

Стр. 54. Т.е. Более точный анализ, включающий филогению, дал 5% для *Methanosarcina*, а менее точный (только по оценке первых хитов) дал 8%. Хотелось бы какого-то вывод на этот счет. Сходу, есть ощущение, что можно пользоваться и просто БЛАСТом т.к. результаты относительно близки, а временные затраты существенно отличаются.

Стр. 56. Р. 3.2.4. Вы сравнили 2 рода – *Pyrococcus* и *Methanosarcina*. В первом случае ГПГ мало, во втором много. Не понятно почему делается вывод, что «геномы представителей *Methanosarcinaceae* очень динамичны по сравнению с другими археями».

Может быть, наоборот, *Thermococcaceae* не динамичны по сравнению с другими археями? Я посмотрел несколько *Thermococcus* и у них порядка 30-100 ГПГ (по оценке IMG - думаю, они руководствуются результатами Best BLAST Hits протеома).

Стр. 60. «Помимо этого, мы разделили все горизонтально перенесённые гены на четыре группы: гены домашнего хозяйства, ферменты, транспортёры и транскрипционные факторы. В первую категорию были включены гены, ассоциированные с репликацией, транскрипцией и трансляцией, а также гены синтеза клеточной стенки.»

А куда отнесли гены, кодирующие белки, участвующие в аппарате деления – к домашнему хозяйству? А белки таксиса, секреции, пили и флагелл – к транспортерам?

Стр. 75 «набор почти универсальных генов»

Вообще странно звучит «почти универсальных» - либо универсальный, либо нет. Кроме того, не понятно, что это за гены – есть ссылка на материалы и методы, но там был некий список универсальных (без «почти») генов – это одно и то же?

Стр. 82. «У всех голоспор есть набор рибонуклеотид-редуктаз, которые не только обеспечивают возможность преобразования рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды и наоборот, но и позволяют им использовать нуклеотиды или дезоксинуклеотиды в качестве источника энергии. Никаких других очевидных источников энергии, кроме нуклеотидов, найдено не было».

Совсем не понятно, что здесь имеется в виду под «источником энергии»? АТФ, восстановленные эквиваленты, мембранный потенциал? И какие «другие источники» рассматривались? Нужно указать четкий путь/пути – каким образом окисление нуклеотидов дает энергию (т.е. цепь реакций от нуклеотида до продукта в которой будет запасание энергии в какой-то форме). Простое указание на то, что «есть набор рибонуклеотид-редуктаз» не является объяснением/доказательством этой возможности. Нуклеотидов тоже много и разных. Может они просто берут АТФ у хозяина? Если так, то тогда правильно это будет звучать не «использовать нуклеотиды в качестве источника энергии», а «получение энергии от хозяина в виде АТФ».

Стр. 83. Рис. 4,6. Метаболизм пирувата.

Пируват дегидрогеназ много разных – какая имеется в виду? Наверное, речь идет о NADP+ зафиксированной пируват дегидрогеназе EC 1.2.1.51? Почему стадия превращения пирувата в ацетил-КоА показана на рисунке многостадийной? 1.2.1.51 делает это одностадийно. Вообще, результаты в главе 4 представлены таким образом, что их нельзя перепроверить – ни локус тагов, ни номеров PFAM, ни EC номеров нет.

Стр. 88. А почему только бактериальных?

Было бы крайне интересно посмотреть и архейные геномы < 1 Mb.

Стр. 98. *«Перед построением дерева из выравнивания были удалены все колонки с пробелами».*

А сколько позиций (колонки/столбцы) для дальнейшего анализа осталось? (довольно жесткий критерий – отсев 100% позиций с «гапами»).

Стр. 106. *«Аннотация последовательностей анти-Шайна-Дальгарно в 16S рРНК показала, что они часто и независимо пропадают в разных таксонах...»*

Может быть они не пропали, а изменились?

Стр. 107. *«Thx стабилизирует элементы рРНК в основании головки малой субъединицы у Thermus thermophilus, что говорит о том, что этот белок, по всей видимости, необходим для выживания при высоких температурах. Однако отсутствие этих белков, по всей видимости, говорит, не о частой их потере, а, наоборот, о позднем появлении в структуре».*

Довольно смелый вывод с учетом того, что базируется он на 1 примере. К тому же термофилия – это древний признак, поэтому позднее возникновение, приводящее к адаптации к высоким температурам, выглядит несколько странно.

Стр. 108. *«Расхождение результатов для этих белков, по всей видимости, связано с тем, что мы использовали более чувствительную процедуру для аннотации рибосомных белков.».*

Возможно и указанный выше ген Thx также найдется не только у Термусов если применить вашу более чувствительную процедуру (речь о высоком пороге E-value?).

Все указанные замечания и вопросы не снижают значимость и новизну полученных результатов.

Достоверность полученных результатов. Степень обоснованности результатов и выводов. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов.

Нет никаких сомнений в достоверности полученных результатов. Это же подтверждает и уровень научных журналов, в которых полученные результаты были опубликованы.

Результаты данной работы могут быть использованы в широком спектре биотехнологических применений, например, для исследования микробиома человека (медицина) или получения биоэлектричества и очистки сточных вод. Выводы обоснованы, хотя их формулировки иногда несколько расплывчаты и общи (это является основным замечанием, относящимся к стилю изложения работы в целом). Ниже приведены замечания, касающиеся заключения и полученным выводам.

Часть Заключения, посвященная Главе 2.

Комментарий, касающийся сравнения 2 сайтов откуда брались инокуляты для МТЭ. Правомерность сравнения данных двух образцов не совсем очевидна. Как указано в публикации (Logan, 2009, ссылка [237]): *The power densities produced by isolates or mixed cultures are often more dependent on the specific architecture (с этим в сравниваемых МТЭ вроде бы все хорошо), electrode spacing and solution conductivity (а вот тут не понятно, но скорее всего сильно отличается) of the fuel cell rather than the specific bacterium²³. Thus, power densities produced by a bacterium in one study cannot be directly compared with another bacterium or a mixed culture unless the MFC architecture and chemical solution are the same.*

Комментарий, касающийся параллельной генерации электричества и синтеза метана. «То, что в случае МТЭ JP наблюдалось ещё и выделение природного газа, показывает, что возможно построить систему, которая не только бы очищала воду и генерировала электрический ток, но и производила какие-то количества природного газа усилиями одного сбалансированного сообщества микроорганизмов.»

Неверный вывод – метаногенез и генерация электрического тока – конкурирующие процессы – см. выше вопрос к стр. 38.

Комментарий, касающийся оптимизации состава сообщества МТЭ для лучшей генерации электричества. «На основании наших исследований можно сделать предположение, что в МТЭ УК можно было бы получить лучшие показатели производства электрического тока, если добавить в сообщество бактерии, способные к прямому переносу электронов, например, *Geobacter spp.*»

Мы не знаем как добавление нового компонента повлияет на все сообщество. Поскольку, судя по всему, передавать электроны на анод может достаточно большое количество микроорганизмов, более логичным выглядит более длительная инкубация сообщества в

данных условиях, чтобы все его микроорганизмы, говоря простым языком «распределили свои роли».

Часть Заключение, посвященная Главе 3.

В кратком предложении, посвященном Главе 3 «самые частые доноры генов – это *Firmicutes* и *Proteobacteria*» не хватает важных деталей, которые авторы привели в самой главе 3: а) объяснения почему это так и б) уточнения о нормализованных результатах.

Часть Заключение, посвященная Главе 4 и часть вывода №3.

Стоило бы указать, что отсутствует только окислительная часть пентозофосфатного пути. Это важно для последующего вывода о нуклеотидах как источнике энергии (и углерода). Сам вывод о том, что нуклеотиды являются единственным источником энергии, не проработан – не очевидно понятие «источника энергии», не понятны пути получения энергии из нуклеотидов и собственно, о каких нуклеотидах идет речь – может быть о самом АТФ? см. выше вопрос к стр. 82.

Все указанные замечания и вопросы не снижают достоверность полученных результатов.

Заключение.

Диссертационная работа **Гарушянц Софьи Константиновны** на тему «**Структура и эволюционная динамика прокариотических сообществ необычных местообитаний**», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук является законченной научно-квалификационной работой. По своей научной новизне и практической значимости диссертационная работа соответствует специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика. Диссертационная работа удовлетворяет критериям, установленным в п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013), а ее автор, **Гарушянц Софья Константиновна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 – математическая биология, биоинформатика.

Отзыв заслушан и одобрен на научном семинаре лаборатории метаболизма экстремофильных прокариот ФИЦ «Биотехнологии» РАН, 14.03.2019 г. (протокол №1 от 14.03.2018 г.); основное направление научно-исследовательской работы лаборатории соответствует тематике диссертационной работы.

Отзыв подготовлен:

Зав. лаб. Метаболизма экстремофильных прокариот, ФИЦ «Биотехнологии» РАН
кандидат биологических наук



Илья Валерьевич Кубланов
29 марта 2019 г.



Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ «Биотехнологии» РАН)

119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2,

тел. +7 (495) 954-52-83, факс +7 (495) 954-27-32.

e-mail: kublanov.ilya@gmail.com