

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Гарушянц Софьи Константиновны

«Структура и эволюционная динамика прокариотических сообществ  
необычных местообитаний»

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.01.09 «Математическая биология, биоинформатика»

Диссертационная работа С.К. Гарушянц посвящена анализу сообществ микроорганизмов, включая исследование их таксономического, генетического и биохимического разнообразия, а также эволюции подобных сообществ. Выбранная автором тематика является крайне актуальной как для микробиологии, так и для биоинформатики. Автором исследованы сообщества микробных топливных элементов, горизонтальный перенос генов в сообществах, состоящих из бактерий и архей, проведен анализ геномов ядерных эндосимбионтов инфузорий *Holospira* spp., а также исследована эволюция рибосом в контексте анализа геномов симбиотических микроорганизмов. Все вышеперечисленные исследования, несмотря на их разнообразие, объединены общей тематикой, изучением микробных сообществ, и общим подходом, применением методологии сравнительной геномики. Все исследования, описанные в работе, выполнены на очень высоком уровне и отличаются новизной полученных результатов. Методы и результаты подробно описаны, что делает исследования полностью воспроизводимыми. Как методы, так и результаты работы прекрасно проиллюстрированы как рисунками, так и таблицами. Также впечатляет список литературы, включающий 326 научных работ.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором сделан акцент на экспериментальные исследования сообществ микроорганизмов. Поскольку большинство результатов, представленных в диссертационной работе, получены методами биоинформатики, первая глава органично дополняет остальные главы, освещая анализ микробных сообществ не только методами биоинформатики, но и методами классической экспериментальной микробиологии. Каждый из подразделов первой главы представляет собой обзор литературы для каждой из последующих глав, со второй по пятую.

В главах со второй по пятую дается описание методов и результатов представленной диссертационной работы. Каждая из этих глав представляет собой законченное научное

исследование и содержит необходимые для каждой научной работы разделы, «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение результатов». Во второй главе два последних раздела объединены в один, «Результаты и обсуждение».

Вторая глава посвящена анализу микробных сообществ анодов микробных топливных элементов. Микробные топливные элементы – многообещающая технология очистки сточных вод. Во второй главе диссертационной работы описаны результаты таксономического и функционального анализа сообществ микробных пленок, образующихся на анодах таких топливных элементов. В главе описаны результаты исследования таксономического состава таких сообществ для двух топливных элементов и показаны различия между этими элементами на уровне таксономического состава микробных сообществ, а также подробно описано изменение таксономического состава сообществ по времени. Также во второй главе приводятся результаты функционального анализа анодных сообществ микробных топливных элементов. Особое внимание уделяется анализу генов, необходимых для биодegradации компонентов сточных вод, и генов, необходимых для переноса электронов на анод. Одним из наиболее интересных результатов является то, что гены растворимых переносчиков электронов имеют разную таксономическую представленность в двух исследованных микробных топливных элементах.

Третья глава посвящена анализу горизонтального переноса генов от бактерий к археям метаносарцинам. Для архей рода *Methanosarcina* spp. ранее был отмечен высокий процент генов, горизонтально перенесенных из различных бактерий. Однако, оценка количества горизонтально перенесенных генов проводилась в первой половине 2000-х годов, когда количество полных геном архей было невелико. В представленной диссертационной работе анализ генов, перенесенных из бактерий в метаносарцин был произведен на основе уже современных данных. Отдельно были проанализированы синглтоны, гены, не входящие ни в какую группу ортологичных белков и характерные только для конкретного вида организмов. Было показано, что таковые гены тоже подвержены горизонтальному переносу, так, в геномах *Methanosarcina* spp. было обнаружено от 10 до 33 горизонтально перенесенных синглтонов. Этот результат представляет интерес, поскольку проведенный анализ позволяет идентифицировать недавние события горизонтального переноса. Также в представленной работе была показана возможность горизонтального переноса от бактерий к археям генов домашнего хозяйства, факторов транскрипции и транспортных белков. Горизонтальный перенос генов транспортных белков от бактерий к археям представляет особый интерес, поскольку эти две группы микроорганизмов имеют различную структуру мембраны. Однако, в настоящей работе было убедительно показано, что даже такой горизонтальный перенос



имеет место и не является чем-то исключительным. Также была предсказана оперонная структура горизонтально перенесенных генов и произведена оценка уровня их экспрессии.

Четвертая глава посвящена сравнительному анализу геномов внутриядерных симбионтов инфузорий, *Holospira* spp. В отличие от многих других эндосимбионтов, бактерии этого рода могут передаваться не только вертикально, но и горизонтально, от хозяина к хозяину. Как и многие другие эндосимбионты, *Holospira* spp. имеют крайне малый размер генома, а следовательно, и редуцированный метаболизм. В четвертой главе были проанализированы геномы пяти различных представителей *Holospira* spp. и было проведено сравнение филогении этих эндосимбионтов с видовой принадлежностью хозяев. Также был произведен функциональный анализ геномов *Holospira* spp., на основании чего было показано, что эти эндосимбиотические бактерии лишены многих метаболических путей, ранее считавшихся универсальными, например, гликолиза. Также в геномах *Holospira* spp. были предсказаны транспортеры, необходимые для доставки в клетку веществ, которые эти эндосимбионты неспособны синтезировать, в частности, путресцина и ряда аминокислот.

Пятая глава посвящена исследованию эволюции рибосом симбиотических бактерий. Эндосимбиотические бактерии характеризуются как малым размером генома, так и редуцированным набором рибосомных белков. В пятой главе был исследован состав рибосомных белков в 214 бактерий с размером генома менее 1 миллиона пар нуклеотидов. Было показано, что состав рибосомы достаточно стабилен, но некоторые белки могут пропадать из генома. Оппонент находит этот результат крайне важным, так как сам неоднократно наблюдал отсутствие некоторых рибосомных белков в полных геномах различных микроорганизмов. В представленной работе рибосомные белки были переаннотированы, были определены эволюционные события потери их генов, оценена скорость эволюции различных рибосомных белков, оценено количество контактов между разными белками в составе рибосомы, а также проведен сравнительный анализ рибосомных РНК, закодированных в исследуемых геномах. Было показано, что у бактерий с короткими геномами могут пропадать гены рибосомных белков, причем один и тот же белок может пропадать независимо в разных группах бактерий. В представленной работе было установлено, что потеря генов рибосомных белков коррелирует со следующими параметрами; (1) степенью редукции генома, (2) расположением белков на рибосоме, так, наиболее часто пропадают белки, расположенные на поверхности рибосомы, (3) количеством контактов отдельно взятого белка с другими белками рибосомы, и (4) укорочением рибосомной РНК. Также было показано, что скорость эволюции рибосомных белков никак не связана с частотой потери их генов.

Новизна полученных результатов и их научная ценность заключается в следующем.

1. Впервые проведен функциональный анализ сообществ микробных топливных элементов, тогда как ранее для подобных элементов проводился только таксономический анализ. Особо следует отметить анализ генов, необходимых для деградации компонентов сточных вод. Также следует отметить новизну подхода к анализу генов, необходимых для биodeградации белков: поскольку анализ собственно протеаз является крайне нетривиальной и сложной задачей, вклад микроорганизмов в биodeградацию белков был оценен косвенно, а именно через анализ генов транспорта аминокислот.
2. Была произведена переоценка количества генов, горизонтально перенесенных из бактерий в геномы архей рода *Methanosarcina* spp. и семейства *Methanosarcinasiae*. Новым является не только результат, но и подход: воспроизведение баз данных биологических последовательностей в разные годы и предсказание горизонтально перенесенных генов на основе этих воспроизведенных баз данных. Такой подход позволил определить, что количество генов, горизонтально перенесенных из бактерий в метаносарцин, было завышено в предыдущих работах в результате малого количества геномов архей в базах данных биологических последовательностей в 2002-2006 годах. Также впервые было произведено сравнение скоростей горизонтального переноса генов транспортных белков и регуляторов транскрипции.
3. В работе были проанализированы пять геномов ядерного эндосимбиота инфузорий, бактерии *Holospira* spp. Следует заметить, что ранее анализу геномов этих бактерий была посвящена всего лишь одна научная работа. В настоящей работе предсказан ряд транспортных белков, позволяющих *Holospira* spp. доставлять в клетку, например, разветвленные аминокислоты, которые они неспособны синтезировать самостоятельно. Также в работе убедительно доказано, что *Holospira* spp. использует в качестве источника энергии нуклеотиды, полученные от хозяина. Кроме того, в представленной работе были предсказаны белки *Holospira* spp., необходимые для заражения макронуклеуса хозяина, то есть, для собственно переноса между хозяевами.
4. Проанализирован состав рибосомы для эндосимбиотические бактерии с очень короткими геномами (менее 1 миллиона пар нуклеотидов). Показано, что различные рибосомные белки независимо пропадают в разных эволюционных линиях бактерий. В частности, было показано, что довольно часто в геномах



эндосимбиотических бактерий отсутствуют гены белков L34 и L36, классифицированных ранее как практически универсальные. Также было показано, что вероятность потери рибосомных белков не коррелирует со скоростью их эволюции, но коррелирует со количеством РНК-белковых и белок-белковых контактов, образуемых этими белками. Кроме того, чаще всего пропадают гены белков, вошедших в состав рибосомы на поздних стадиях ее эволюции.

Из недостатков работы можно отметить следующие.

1. На стр. 8 указано, что в работе «был исследован ряд экосистем необычных местообитаний». Выражение «необычные местообитания» не является научным термином, поэтому следовало бы пояснить, что подразумевается под «необычными местообитаниями», поскольку данное выражение неоднократно встречается в диссертационной работе.
2. На стр. 23 встречается фраза «В соответствии с гипотезой сложности (the complexity hypothesis), горизонтальный перенос генов, которые кодируют белки, взаимодействующие с большим количеством белков, происходит реже, чем генов, чьи продукты имеют меньше связей». Фраза крайне тяжеловесна и трудна для понимания. Следовало бы разбить эту фразу на несколько и сформулировать гипотезу сложности более понятным образом, тем более что фраза важна для понимания результатов работы, описанных в пятой главе.
3. На стр. 60 указано, что «Количество транскрипционных факторов и генов домашнего хозяйства ... было оценено по КОГ, тогда как количество транспортёров и ферментов было оценено по базам данных PFAM и EFICAZ, соответственно», при этом отсутствуют какие-либо объяснения, почему для анализа разных групп белков были использованы разные базы данных.
4. На стр. 63 упоминаются «нетривиальные опероны», но не дается никакого пояснения, какие опероны автор считает «нетривиальными».
5. Минимум дважды в работе встречается сочетание русскоязычного термина и англоязычной аббревиатуры, «агенты переноса генов (GTA)» на стр. 65 и «триггер-фактор (TF)» на стр. 96. В обоих случаях следовало бы дать в скобках вначале полное написание англоязычного термина, а затем, через запятую – англоязычную аббревиатуру, либо же использовать русскоязычную аббревиатуру, как это было сделано, например, для групп ортологичных генов (ГОб).

6. В тексте неоднократно (стр. 14, 26, 48, 53 и 71) используется выражение «филогенетическое древо», вместо устоявшегося термина «филогенетическое дерево».

Тем не менее, указанные недостатки не снижают ценности полученных результатов.

### Заключение

Диссертационная работа С.К. Гарушянц выполнена на высоком научном уровне и охватывает сразу несколько актуальных направлений биоинформатики и микробиологии. Приведенные результаты можно классифицировать как новые, обоснованные и имеющие большое практическое и научное значение.

Диссертационная работа написана доходчиво, грамотно и аккуратно оформлена. Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Работа отвечает требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор Гарушянц Софья Константиновна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.09 «Математическая биология, биоинформатика».

Кандидат биологических наук

Научный Сотрудник

Ирландский национальный университет

Голуэй, Ирландия

[dmitry.ravcheev@nuigalway.ie](mailto:dmitry.ravcheev@nuigalway.ie)

Research fellow

National University of Ireland Galway

Galway, Ireland



Д. А. Равчеев

19.03.2019