

Экспертиза диссертации

Автор: Гоглева Анна Анатольевна

Название: Исследование CRISPR-систем прокариотического иммунитета методами сравнительной геномики

Объект исследования: CRISPR-кассеты в метагеномных данных микробиомов человека.

Цель исследования: изучить эволюцию и динамику CRISPR-систем в микробиоме человека.

Задачи работы:

1. Идентифицировать CRISPR-кассеты в трёх метагеномных коллекциях микробиома человека.
2. Установить таксономическую принадлежность идентифицированных CRISPR-кассет.
3. Определить тип CRISPR-Cas систем для идентифицированных кассет.
4. Определить источник происхождения спейсеров, т.е. найти протоспейсеры.
5. Сравнить наборы CRISPR-кассет, повторов и спейсеров между разными индивидуальными метагеномами и целыми метагеномными коллекциями микробиомов человека.
6. Исследовать динамику спейсеров и эволюцию CRISPR-кассет микробиома человека.

Методы исследования:

Методы сравнительной геномики. Использовались существующие алгоритмы предсказания CRISPR-кассет, а также методы кластеризации повторов. Процедура реконструкции структуры CRISPR-кассет впервые применена к трем

метагеномным коллекциям кишечника человека. Для определения уровня значимости полученных результатов проводились симуляции по методу Монте-Карло.

Обзор литературы:

Обзор литературы достаточно полный и содержит 162 ссылки на современные литературные источники. Обзор покрывает все основные вопросы, связанные с темой работы.

Основные результаты:

1) В работе проводится изучение фрагментов бактериофагов, включенных в геномы бактерий в пределах CRISPR-кассет – участков, ответственных за формирование бактериального противовирусного иммунитета. Подавляющая часть реконструированных кассет описана впервые.

2) Таксономическое распределение CRISPR-содержащих контигов для двух метагеномов (HMP и DG) качественно совпадает с результатами анализа генов 16S рРНК: большая часть контигов (21%), содержащих CRISPR-кассеты отнесена к типу *Firmicutes*.

3) Определено происхождение спейсеров и подробно исследована динамика спейсеров и кассет внутри более чем 140 индивидуальных микробиомах человека, принадлежащих географически разобщенным популяциям. Сравнение обнаруженных спейсеров с известными виروмами человека, NR коллекцией базы данных GenBank и полными вирусными геномами выявило протоспейсеры лишь для 0.7% спейсеров.

4) Показано что набор CRISPR-кассет и последовательность спейсеров внутри кассет очень специфичны, только 2 % спейсеров и 15% кластеров повторов, встречаются в двух и более индивидуальных метагеномах.

5) Пары спейсер-протоспейсер «отталкиваются», то есть редко колокализуются в одном и том же индивидуальном метагеноме.

б) Выявлено два функциональных класса спейсеров: спейсеры с мишенями и общие спейсеры. Показано что они статистически значимо сдвинуты в противоположных направлениях внутри кассеты: спейсеры с мишенями располагаются рядом с лидерной последовательностью, в то время как общие спейсеры сдвинуты к дистальному концу кассет и соответствуют более древнему состоянию CRISPR-иммунитета.

Публикация результатов:

По материалам диссертации опубликовано семь печатных работ, из них три – статьи в журналах, рекомендованных ВАК, и четыре — тезисы в материалах конференций. Основные результаты работы докладывались на: 34-й конференции молодых учёных и специалистов ИППИ РАН ИТиС'11 (Геленджик, октябрь 2011); 35-й конференции молодых учёных и специалистов ИППИ РАН ИТиС'12 (Петрозаводск, август 2012); на научной встрече международной учебно-научной группы «Regulation and Evolution of Cellular Systems (RECESS)» (Венеция, Италия, май 2013), Международной конференции CRISPR: Evolution, Mechanisms and Infection (St Andrews, University of St Andrews, UK, June 2013); 6-ой Московской конференции по вычислительной молекулярной биологии МССМВ'13 (Москва, июль 2013).

Заключение:

Исследование выполнено на достаточно высоком научном уровне, самостоятельно, достаточно полно опубликовано. Тема исследования полностью соответствует специальности «математическая биология, биоинформатика» и соответствует профилю Совета.

Председатель комиссии:

д.б.н. М.С. Гельфанд

Члены комиссии:

д.б.н. А.А. Миронов

д.ф.-м.н. М.А. Ройтберг