


УТВЕРЖДАЮ  
И.о. генерального директора ФБУН  
«Государственный научный центр  
вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
В.Н. Михеев  
13 января 2015 г.



### ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Смышляева Георгия Андреевича «**Структурное разнообразие и эволюция non-LTR-ретротранспозонов суперсемейства *L1* из геномов растений**», представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

Ретротранспозоны являются важнейшими составляющими геномов многих эукариотических организмов. Особенно широкое распространение ретротранспозоны получили в геномах растений, некоторые из которых на более чем 80% состоят из ретротранспозонов. Тем не менее, представления о роли ретротранспозонов в эукариотических геномах остаются во многом размытыми. Для того чтобы понять какие принципы лежат в основе широкого распространения ретротранспозонов, на первом этапе необходимо оценить масштабы этого распространения и разнообразия форм ретротранспозонов.

Кроме того, в связи с высокими темпами секвенирования новых геномов появляется все большая потребность в автоматическом анализе и аннотации последовательностей этих геномов. Во многих случаях подобный анализ осложняется наличием огромного числа повторяющихся элементов и, в частности, ретротранспозонов. Таким образом, сравнительный анализ распространения и разнообразия ретротранспозонов, во-первых, является одним из основных подходов в получении информации о роли ретротранспозонов в эволюции генома, и, во-вторых существенно облегчает анализ последовательностей целых геномных последовательностей эукариот. В связи с этим, **актуальность** темы диссертационной

работы Смышляева Г.А., посвященной изучению разнообразия и эволюции *L1*-ретротранспозонов в геномах растений, не вызывает сомнений.

В данной работе был сформулирован ряд задач, направленных на комплексное описание *L1*-ретротранспозонов из геномов растений, относящихся к широкому кругу таксонов. Данные задачи были успешно реализованы с использованием как биоинформатических, так и экспериментальных методов, и в результате были получены **новые** данные о разнообразии *L1*-ретротранспозонов в геномах растений. В частности, было охарактеризовано 5 филогенетических групп этих элементов, представители каждой из которых обладают специфичными для данной группы структурными характеристиками. На основании анализа этих характеристик сделан вывод о важной роли модульного строения исследуемых ретротранспозонов в эволюции этих элементов. Важным результатом также является вывод о том, что рибонуклеаза H (RNH) была приобретена *L1*-элементами независимо от остальных non-LTR-ретротранспозонов. В результате биохимического исследования домена RNH *L1b*-ретротранспозона, относящегося к *L1*-элементам, было продемонстрировано, что этот домен обладает ферментативной активностью *in vitro*.

**Теоретическая и практическая ценность** исследования состоит, главным образом, в получении систематизированной коллекции *L1*-ретротранспозонов, последовательности которых могут быть использованы для анализа геномов растений. Кроме того, работа вносит вклад в понимание фундаментальных принципов эволюции ретротранспозонов. Наконец, протокол синтеза и очистки домена RNH в *Escherichia coli* может в дальнейшем быть использован для проведения экспериментальных исследований этого домена, а также помочь в оптимизации условий для подобных исследований.

**Характеристика диссертации.** Диссертационная работа Смышляева Г.А. состоит из введения, трех глав, заключения и списка литературы. Работа изложена на 104 страницах, содержит 21 рисунок и четыре таблицы. Список цитируемой литературы состоит из 193 работ.

Во введении автор обосновывает необходимость проведения работы, а также формулирует цель и задачи работы.

В главе 1 “Обзор литературы”, составляющей около трети диссертации, приводится описание современного состояния исследований, посвященных мобильным элементам. Особое внимание уделяется основному объекту исследования – non-LTR-ретротранспозонам. Анализируются основные особенности механизмов перемещения и регуляции non-LTR-ретротранспозонов, а также раскрываются представления о структурном разнообразии и эволюции этих ретроэлементов. В заключении главы делается обобщающий вывод об актуальности изучения non-LTR-ретротранспозонов из суперсемейства *L1* в геномах растений

Глава 2 “Материалы и методы” содержит достаточно детальное описание использованных методов и подходов. Работа характеризуется применением как биоинформатических, так и экспериментальных методов.

Глава 3 “Результаты” состоит из семи основных разделов. В первых пяти разделах, каждый из которых посвящен анализу отдельной группе элементов, автор описывает распространение обнаруженных ретроэлементов и дает характеристику их структурному разнообразию. Шестая и седьмая главы посвящены исследованию домена рибонуклеазы Н *L1*-ретротранспозонов растений. В них проводится сравнительный анализ различных типов рибонуклеаз Н, а также подтверждается биохимическая активность данного домена синтезированного в *E. coli*.

Результаты, описанные в Главе 3, обсуждаются в Главе 4. Делается вывод о модульном характере эволюции *L1*-ретротранспозонов растений, который обосновывается как биоинформатическими, так и экспериментальными данными.

И наконец, глава “Заключение” подводит итог проделанной работы. Выводы четко сформулированы и отражают результаты проделанной работы.

Диссертационная работа Г.А. Смышляева написана четко, простым понятным языком и производит хорошее впечатление. Работа содержит некоторые неточности, которые носят чисто редакционный характер, например:

1) На стр. 50 автор пишет «Для конструирования рекомбинантной плазмиды, содержащей домен RNH non-LTR-ретротранспозона...». Вместо «содержащей» должно быть «кодирующей».

2) Там же вместо текста «последовательность была синтезирована с использованием программы GeneArt» должно быть «последовательность была спроектирована с использованием программы GeneArt».

3) В результате проведенного анализа автором было идентифицировано 149 новых *L1*-non-LTR-ретротранспозонов. Однако, из диссертации не ясно выложены ли последовательности идентифицированных ретротранспозонов в базу данных GenBank. Если нет, то хотелось бы, чтобы автор пояснил, почему это не было сделано.

В целом диссертационная работа Смышляева Георгия Андреевича «Структурное разнообразие и эволюция non-LTR-ретротранспозонов суперсемейства *L1* из геномов растений» является законченным, оригинальным исследованием, новизна и значимость которого не вызывают сомнений. Тематика диссертации полностью соответствует указанной специальности. Выводы диссертации являются обоснованными, автореферат адекватно и полно отражает содержание работы. Все основные результаты соискателя опубликованы в шести публикациях в журналах из списка ВАК, в том числе в таких высокорейтинговых журналах, как *Molecular biology and evolution* (IF=14,308), *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* (IF=9,809), *BMC Genomics* (IF=4,041), *Plant Journal* (IF=6.815).

Таким образом, диссертационная работа Г. А. Смышляева полностью удовлетворяет всем требованиям ВАК России, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, а ее автор, несомненно, достоин присуждения искомой степени.

Отзыв обсужден и одобрен на семинаре теоретического отдела ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

Заведующий теоретическим отделом  
ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"  
д.б.н.

Подпись заведующего отделом, д.б.н. С.И. Бажана заверяю.  
Ученый секретарь ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»  
к.б.н., доцент

15 января 2015 г.



С.И. Бажан

О.А. Плясунова