

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Устьянцева Кирилла Валерьевича **«Функциональная и структурная конвергенция ретротранспозонов с дополнительным доменом рибонуклеазы H в геномах растений и оомицетов»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Объектом исследования представленной диссертационной работы являются мобильные генетические элементы, в частности, ретротранспозоны, которые составляют значительную фракцию геномов эукариот и являются одними из ключевых факторов их нестабильности. Присутствие и активность мобильных элементов оказывает значительное влияние на структурную организацию, функционирование и эволюцию генома-хозяина.

Представленная диссертационная работа нацелена на изучение распространения, разнообразия и эволюции ретротранспозонов с «архейным» доменом рибонуклеазы H (RNH) в геномах растений и оомицетов. Эта задача является **чрезвычайно актуальной**, поскольку ее решение может дать ответы на вопросы происхождения и разнообразия мобильных генетических элементов у эволюционно удаленных таксонов.

Выбор RNH в качестве маркера для изучения распространения, разнообразия и эволюции ретротранспозонов обусловлен тем, что она является одним из наиболее часто приобретаемым и теряющимся функциональным доменом в эволюции различных групп ретроэлементов. Учитывая, что non-LTR-ретротранспозоны зеленых растений и оомицетов приобрели домен RNH, филогенетически близкий к последовательностям генов RNH архей (aRNH), автор задается вопросом, каким путем ретротранспозоны растений и оомицетов приобрели этот домен. Возможны два варианта – либо независимо, путем конвергентной эволюции, либо путем горизонтального переноса за счет тесной связи паразита и хозяина на ранних этапах их эволюции, поскольку паразитизм является единственным связующим звеном между отдельными таксонами оомицетов и растениями.

Для поиска ответа на этот вопрос автор проанализировал разнообразие, распространение и эволюцию ретротранспозонов в геномах растений и оомицетов. Поставленные в диссертационной работе задачи Устьянцев К.В. решает с использованием методов биоинформационного анализа последовательностей ретротранспозонов.

Диссертационная работа состоит из традиционных разделов: Списка сокращений, Введения, Обзора литературы, Материалов и методов, Результатов и обсуждений, Заключение, Выводов, Списка цитируемой литературы и пяти Приложений.

Во Введении изложены актуальность темы исследования, цель, задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, структура и объем работы. Приведены данные об апробации работы и выходные данные двух статей по теме диссертации.

В обзоре литературы (глава 1) автор подробно рассматривает вопросы, касающиеся роли МЭ в качестве факторов быстрой изменчивости геномов, другими словами роли МЭ в качестве эволюционных драйверов. Детально рассмотрена структурно-функциональная организация, жизненный цикл, а также разнообразие и распространение LTR- и non-LTR-ретротранспозонов. Особое внимание в обзоре литературы уделено модульной эволюции ретротранспозонов и, в частности, происхождению домена RNH, который был независимо и неоднократно приобретен в эволюции различных представителей как non-LTR-, так и LTR-ретротранспозонов. В заключении обзора литературы проанализировано распространение ретротранспозонов в геномах простейших оомицетов и зеленых растений в контексте взаимодействия паразит-хозяин и ставится задача о возможном происхождении домена aRNH у этих организмов (горизонтальная передача или вертикальная эволюция).

В главе 2 (Материалы и методы) представлено детальное описание биоинформатических методов и подходов, применяемых в исследовании. Последовательно и доступно изложена стратегия исследования и, отражающая основные этапы исследования и их взаимосвязь.

Глава 3 (Результаты и обсуждение) состоит из трех основных разделов. Первый раздел посвящен исследованию разнообразия и распространения ретротранспозонов с доменом «архейной» рибонуклеазы H в геномах растений и оомицетов. Здесь автор на основе множественного выравнивания аминокислотных последовательностей сконструировал профиль aRNH, с помощью которого проанализировал разнообразие и распространение ретротранспозонов сначала в базе данных Repbase Update, а затем в геномных последовательностях зеленых растений и оомицетов. Присутствие LTR-ретротранспозонов с aRNH было обнаружено для 43 из 65 проанализированных геномов растений, а представители хотя бы одной из трех групп LTR- и Non-LTR ретротранспозонов с aRNH (“LTR/Gypsy”, “Non-LTR/Utopia” и “Non-LTR/L1”) были найдены в 21 из 25 исследованных геномов оомицетов.

На следующем этапе для каждой группы гомологии (как Ty3/Gypsy, L1 или Utopia) была отобрана последовательность одного из представителей группы для дальнейшего структурного и филогенетического анализа. Анализ полученных результатов позволил автору выявить один эволюционный кластер LTR-ретротранспозонов растений и **два новых кластера** (*Archon* и *Chronos*) LTR-элементов у оомицетов, содержащих домен aRNH. Более детальный анализ RT-доменов LTR-ретротранспозонов зеленых растений показал наличие шести филогенетических кластеров у *Tat* LTR-ретротранспозонов, характеризующихся различной структурой гена *pol*, при этом наличие домена aRNH у этих ретротранспозонов было показано **впервые**. Различное положение aRNH в гене *pol* *Tat* LTR-ретротранспозонов позволило автору предположить, что данный домен был приобретен независимо несколько раз элементами из разных кластеров *Tat* в течение их эволюции. Кроме того, эволюционная удаленность обнаруженных кластеров LTR-ретротранспозонов (*Archon* и *Chronos*) с aRNH у оомицетов, позволила автору предположить, что наиболее вероятным объяснением возникновения схожих структур между элементами из этих кластеров LTR-ретротранспозонов может быть их конвергентная эволюция к данному «фенотипу» за счёт независимого приобретения домена aRNH в результате воздействия одинаковых условий отбора на эти элементы.

Для подтверждения гипотезы о конвергентной эволюции ретротранспозонов растений и оомицетов автор проанализировал источник происхождения доменов aRNH у предков этих организмов и показал, что последовательности индивидуальных aRNH, которые могли бы служить источником происхождения доменов aRNH у исследованных ретротранспозонов, имеются как в геномах растений, так и у последнего общего предка свободноживущих и паразитических оомицетов.

Диссертационная работа Устьянцева К.В. обладает **теоретической и практической значимостью**. Результаты данной работы вносят значительный вклад в понимание особенностей разнообразия, распространения и модульной эволюции мобильных генетических элементов эукариот. Разработанный и успешно примененный в данной работе алгоритм поиска новых групп ретротранспозонов с доменом «архейной» рибонуклеазы H может быть в дальнейшем использован для идентификации групп ретротранспозонов с другими доменами и на новых геномных данных.

Диссертационная работа Устьянцева К.В. производит хорошее впечатление, она выполнена на высоком профессиональном уровне, написана четким и грамотным языком, хорошо иллюстрирована и не дает повода для серьезных критических замечаний.

В целом, следует высоко оценить диссертационную работу Устьянцева К.В. Она является вполне законченным исследованием, в рамках которого впервые проведен поиск и детальное исследование ретротранспозонов, содержащих домен «архейной» рибонуклеазы H в геномах зеленых растений и оомицетов. Новизна и значимость представленной работы не вызывают сомнений. Основные результаты и выводы исследования являются обоснованными и логически подводят итог проведенного исследования. Автореферат адекватно и полно отражает содержание работы. Материал диссертации соответствует указанной специальности 03.02.07 – генетика. Основные результаты полно представлены в двух статьях, одна из которых опубликована в журнале *Mobile DNA* (IF= 4.23), а другая – в журнале *Molecular Biology and Evolution* (IF= 6.20). В обеих статьях Устьянцев К.В. является первым автором.

Заключение. По совокупности новых, актуальных, биологически значимых и достоверных результатов диссертационная работа Устьянцева К.В. полностью соответствует требованиям, которые сформулированы в п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842., а ее автор, Устьянцев Кирилл Валерьевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук по специальности

03.00.03 - молекулярная биология

заведующий теоретическим отделом

Бажан Сергей Иванович

р.т. +7 (383) 363-47-00 вн. номер 2001,

e-mail: bazhan@vector.nsc.ru

5 марта 2018 г.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора)

Почтовый адрес: 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Телефоны: 8(383)-3634710, 8(383)-3366010;

Факс: 8(383)-3367409;

E-mail: vector@vector.nsc.ru

web-сайт: <http://www.vector.nsc.ru>

Подпись заведующего отделом, д.б.н. С.И. Бажана заверяю:

Ученый секретарь ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора

канд. биол. наук, доцент

О.А. Плясунова

5 марта 2018 г.

