

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Никулина Никиты Алексеевича
«Эволюционная дивергенция Т4-родственных бактериофагов, связанная с
неканоническими азотистыми основаниями ДНК» на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности

1.5.3. - молекулярная биология

Диссертационная работа Никулина Н.А. посвящена сравнительно-эволюционному анализу Т4-родственных бактериофагов и роли систем, обеспечивающих воспроизведение фагов с неканоническими основаниями ДНК, в формировании устойчивого набора микроорганизмов-хозяев, и, соответственно, в освоении экологических ниш распространения фагов в природных экосистемах. В обосновании целей и задач исследования отмечается, что широкое распространение Т4-родственных бактериофагов и доступность данных об их нуклеотидных последовательностях делают возможными масштабный анализ их генетического разнообразия и определение направленности и механизмов ко-эволюции систем «фаг-хозяин», что является необходимой предпосылкой для отбора оптимальных объектов для фаговой терапии с точки зрения специфичности инфицирования определенных патогенов.

Отправной точкой для сравнительно-эволюционного анализа послужил собственный экспериментальный материал автора по характеристике образцов бактериофагов, полученных в природных резервуарах и сточных водах в окрестностях г. Пушкино. С использованием традиционных методов (ПЦР с гено-специфическими праймерами к гену главного белка капсида, праймерами к консервативному региону геномов вирусов близкородственных виду Т4 и тестирование способности фагов инфицировать *E.coli*, обладающих системами рестрикции-модификации) было проанализировано 62 образца, для 58 из них была показана принадлежность к Т4-родственным бактериофагам, 51 оказались близкородственными виду Т4. Для 7 видов, которые не являются близкородственными Т4, был выполнен более углубленный анализ с использованием оценки электрофоретической подвижности фаговых частиц с последующим секвенированием образцов с характерными паттернами миграции частиц. Примечательно, что по результатам секвенирования и определения систематического положения бактериофагов оказалось, что электрофорез интактных фагов является достаточно информативным подходом для первичной классификации и отнесения фагов к различным родам подсемейства *Tevenvirinae*, что может быть использовано при выполнении аналогичных работ по скринингу вновь обнаруживаемых бактериофагов.

Для дальнейшего анализа собственных экспериментальных данных и выявления связей между генетическими характеристиками бактериофагов и осваиваемыми экологическими нишами автор использовал методы анализа пангеномов и эссенциальных генов (в данном случае, гена главного белка капсида) 199 представителей подсемейства *Tevenvirinae*. Конфигурации для пангеномного и филогеномного деревьев (рис. 4, 6), которые однозначно выявляют 20 устойчивых групп, но при этом не являются топологически идентичными, с очевидностью указывают на процессы горизонтального переноса генов в составе пан-генома, в то время как для гена белка капсида филогенетическое дерево (рис. 5) воспроизводит последовательные во времени эволюционные связи. При этом формирование групп ассоциировано с бактериями-хозяевами бактериофагов. Использованный подход

анализа пан-генома в сочетании с анализом высококонсервативных генов представляется чрезвычайно продуктивным для отбора потенциальных кандидатов для фаговой терапии бактериальных инфекций. Визуализация двудольных кластер-геномных сетей для оболочки пан-генома, в свою очередь, позволила выявить сегрегацию анализируемых видов, отражающую адаптацию бактериофагов к определенным экологическим нишам, детерминированную специализированными наборами генов пан-геномной оболочки. Оказалось, что к таким групп-специфичным кластерам генов относятся и гены, способствующие воспроизведению фагов *Tevenvirinae* с неканоническими основаниями ДНК. Далее автор для представителей каждой группы, выявленной на первоначальном этапе работы, проанализировал генетическое окружение таких генов. Оказалось, что гены модификации азотистых оснований располагаются в определенном предпочтительном локусе, между генами ДНК-полимеразы и хеликазы, при этом набор таких генов варьирует между группами фагов. Присутствие в таком кластере хоуминг-эндонуклеаз интерпретировано автором как предпосылка для возможности горизонтального переноса генов модификации азотистых оснований. Полученные теоретические выкладки, сделанные на основе применения различных инструментов филогенетического анализа, представляют существенный интерес для прогнозирования вероятности инфицирования тех или иных микроорганизмов бактериофагами и сосуществования определенных видов фагов в одной нише по условиям и по спектру потенциальных бактерий-хозяев. Так, при определении перспектив терапии с использованием того или иного бактериофага целесообразно как выявление и определение состава кластера генов, связанных с синтезом неканонических оснований, так и учет наличия/отсутствия систем рестрикции-модификации у микроорганизма-хозяина.

Важным с точки зрения научной новизны работы является сделанный Н.А. Никулиным вывод о том, что гены, способствующие воспроизведению фагов с неканоническими основаниями ДНК, можно использовать в качестве генетических маркеров принадлежности фага к устойчивым филогенетическим группам, выявляемым с помощью пан-геномного анализа, для которых установлен круг бактерий-хозяев.

Работа Н.А. Никулина, представленная в автореферате кандидатской диссертации, отличается последовательным и логически увязанным изложением, позволяющим проследить путь от первоначальной характеристики выделенных бактериофагов до обобщающего анализа их и родственных видов с точки зрения эволюции, экологической распространенности и способности инфицировать определенные виды микроорганизмов.

Автореферат написан хорошим литературным языком, наглядно иллюстрирован и соответствует содержанию диссертации.

В то же время, можно высказать замечания к оформлению технического характера:

- в подписи к рисунку 2 целесообразно было бы указать условия электрофореза (тип геля, процентность, буфер), поскольку данный метод в силу своей простоты применим для предварительной характеристики вновь выделенных бактериофагов и может представлять интерес для специалистов в области экологической микробиологии;
- ссылка на стр.22 ([61]) не позволяет идентифицировать источник, поскольку не указана фамилия автора и год публикации.

Работа Никулина Никиты Алексеевича «Эволюционная дивергенция Т4-родственных бактериофагов, связанная с неканоническими азотистыми основаниями ДНК» соответствует требованиям Постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. - молекулярная биология.

Масулис Ирина Станиславовна

Кандидат биологических наук (специальность 1.5.2)

Заместитель директора по научной работе Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»,


142290 Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д.3, ИБК РАН

Тел.: +7(4867)739231

Эл. почта: masulis@icb.psn.ru

Я, Масулис Ирина Станиславовна, даю согласие на включение и дальнейшую обработку своих персональных данных при подготовке документов аттестационного дела соискателя ученой степени кандидата биологических наук Никулина Никиты Алексеевича.

«15 » мая 2024 г.


Подпись

Подпись Масулис Ирины Станиславовны заверяю:

Ученый секретарь Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

к.б.н.



К.С.Шавкунов

