

**ОТЗЫВ  
ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

**на диссертационную работу К.М. Климиной «Генетический анализ систем токсин-антитоксин суперсемейства RelBE у лактобацилл», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.07 – Генетика.**

Рецензируемая работа посвящена изучению крайне интересной биологической системе токсин-антитоксин (ТА) у бактерий. Данные системы по мере их изучения и обнаружения первоначально в мобильных генетических элементах и крупных плазидах ставят все больше и больше загадок перед исследователями. Конкретным объектом исследования являлись бактерии рода *Lactobacillus.*, а задачей стало изучение и распределение ТА систем второго типа. В последнее время к молочнокислым бактериям, и в частности к лактобациллам приковано большое внимание исследователей, так как эти бактерии одновременно составляют важную часть микробиоценозов человека и, являются наиболее часто применяемыми в биотехнологии компонентами пробиотиков, оказывающих разнообразные позитивные эффекты на здоровье человека. Показано, что лактобациллы обладают выраженной колонизационной резистентностью, позволяющей элиминировать патогены и мощными иммуномодулирующими свойствами, позволяющими воздействовать на систему адаптивного и врожденного иммунитета.

При этом, несмотря на увеличившийся в последнее время объем знаний о структуре геномов различных микроорганизмов, лактобациллы до сих пор исследованы недостаточно. В частности, роль таких важных элементов, как системы токсин-антитоксин в биологии лактобацилл исследована недостаточно. Поэтому исследование Климиной К.М. одновременно имеет как фундаментальную, так и практическую составляющие.

Работа написана по обычному плану и состоит из введения, обзора научной литературы, раздела материалов и методов, собственных результатов исследования, короткого заключения и выводов.

Обзор литературы посвящен описанию типов ТА систем и их функционированию в различных бактериях. В обзоре цитируется 177 источников, что характеризует хорошую проработку автором научной литературы. Достаточное количество публикаций можно отнести к недавним, что также положительно характеризует данную часть диссертационной работы. Позитивно, что диссертант связала изложенное в обзоре литературы с непосредственными задачами диссертационного исследования. Язык написания данной части вполне литературный и нареканий не вызывает. Считаю, что при небольшой переработке обзор может быть опубликован в современной научной литературе.

Методическая часть работы очень хорошо и полно изложена и демонстрирует прекрасную оснащенность автора самыми современными молекулярно-генетическими методами работы. Импонирует, что автор систематизировала разнообразные объекты исследования: штаммы лактобацилл, плазмидные конструкции, олигонуклеотидные праймеры в виде таблиц, что облегчает анализ и понимание работы. Ценной частью работы являются эксперименты по выяснению активности потенциальных промоторов ТА систем по точкам инициации транскрипции. В целом, методический уровень работы очень высок и соответствует мировым стандартам.

Раздел результатов тоже написан очень полно и удачно. Автору удалось, во-первых, охарактеризовать коллекцию штаммов, а во-вторых, получить несколько совершенно новых научных данных, которые могут быть положены в основу дальнейших исследований и разработок. Например, в ходе работы установлено, что видовая принадлежность нескольких штаммов не всегда соответствовала паспортным данным.

Автор показала, что большинство генов ТА систем характеризуются высоким консерватизмом, что указывает на их важное физиологическое значение для данных микроорганизмов, при этом было показано, что виды лактобацилл характеризуются специфическим набором генов токсинов и антитоксинов, что открывает перспективы для использования этих генов для целей диагностики видов. Показана функциональная активность некоторых токсин-антитоксин систем и сложная структурная организация одной из систем, в которой было обнаружено 4 промотора. Любопытно, что 2 из функционально активных промоторов локализованы внутри генов. Данная часть работы обладает безусловной новизной, хотя мне как рецензенту, не хватило осмысления автором обнаруженного феномена и его значения. Важной находкой в работе является возможность индукции экспрессии системы *uefM-yoeB* в условиях температурного шока. Интересным и безусловно важным феноменом оказалась демонстрация экспрессии генов токсина в грамотрицательных бактериях. Потенциально данная находка открывает перспективы для создания экспрессионных моделей для синтеза токсинов в качестве новых антимикробных препаратов. Важной находкой явилась и обнаружение IS элементов в некоторых из Т-А систем. Возможно, что бактерии используют феномен генетической инактивации данных генов для аттенуации их функциональной активности.

Раздел работы, касающийся использования генетической идентификации ТА систем лактобацилл для видовой и штаммовой идентификации, имеет перспективы для последующего практического использования.

Раздел результатов в целом нареканий не вызывает, представлены хорошие иллюстрации и рисунки, количество опечаток и пунктуационных ошибок очень незначительно. Полученный в результате исследования массив научной

информации указывает на полное выполнение поставленных в ходе данной диссертационной работе задач.

В ходе прочтения работы у меня также возникло несколько вопросов дискуссионного характера:

1. Если в некоторых штаммах присутствуют только гены токсина или антитоксина, то какова их возможная функция таких систем у данных штаммов?
2. В чем вообще автор видит роль ТА систем в биологии лактобацилл?
3. Видит ли автор перспективы применения токсинов, относящихся к ТА системам лактобацилл в качестве новых антимикробных препаратов?

Приведенные замечания и поднятые вопросы не влияют на положительную оценку работы. Представленная диссертационная работа в целом позволяет характеризовать К.М. Климину как сложившегося, самостоятельно мыслящего специалиста в области общей генетики, свободно владеющую современными молекулярно-биологическими и молекулярно-генетическими подходами.

**Заключение:** Диссертационная работа К.М. Климиной в полной мере соответствует пункту № 9 « Положения о порядке присуждения ученых степеней» №842, утвержденного правительством Российской Федерации в 2013 году, а соискательница полностью достойна ученой степени кандидата наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Руководитель отдела молекулярной  
микробиологии ФГБНУ «ИЭМ», д.м.н, профессор

А.Н. Суворов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт  
экспериментальной медицины»  
197376, Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, д.12; тел: 8 (812)234-68-68,  
iem@iemrams.ru

Подпись А.Н. Суворова заверяю:

Ученый секретарь  
ФГБНУ «ИЭМ»

18 сентября 2015 года



Н.Н. Пшенкина