

## ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Козлова Евгения Николаевича «Анализ экспрессии генов капсидных белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) в гетерологичных системах – культурах клеток млекопитающих и трансгенных линиях дрозофилы», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика**

Диссертация Евгения Николаевича Козлова посвящена изучению экспрессии генов капсидных белков денсовируса BgDV1 в гетерологичных системах: культурах клеток млекопитающих и трансгенных линиях *D. melanogaster*. Известно, что компоненты антивирусных ответов насекомых сходны с таковыми у высших позвоночных, и, в частности, у человека. Это обстоятельство обуславливает научную значимость изучения функционирования системы клеточной защиты у насекомых для решения фундаментальных и практических проблем.

Объектом исследования диссертационной работы являлся денсовирус рыжего таракана (BgDV1), относящийся к семейству *Parvoviridae*, которое состоит из двух подсемейств - *Parvovirinae* и *Densovirinae*. Представители подсемейства *Densovirinae* инфицируют беспозвоночных животных, тогда как большая часть вирусов подсемейства *Parvovirinae* является возбудителями опасных заболеваний человека, сельскохозяйственных и домашних животных. Вирусы *Parvovirinae* и *Densovirinae* являются родственными, имеют схожие жизненные циклы и структурно-функциональную организацию генома. Поэтому, беспозвоночные животные, инфицированные денсовирусами, могут рассматриваться в качестве удобной модели для изучения особенностей патогенеза, характерных для большинства представителей семейства *Parvoviridae*.

Евгением Николаевичем Козловым проведена очень большая и разноплановая работа. Автор использовал зараженные денсовирусом BgDV1 пересеваемые культуры клеток млекопитающих и трансгенных мух *D. melanogaster* для анализа экспрессии генов вирусных белков в организмах, в норме не инфицированных данным типом вируса. Для этого проводилась трансфекция клеточных культур и эмбриональная трансформация *D. melanogaster*. В работе исследовалась внутриклеточная локализация капсидных белков денсовируса BgDV1 в процессе транзитной экспрессии векторных конструкций в пересеваемых культурах клеток млекопитающих (HeLa и Cos1). Методом сайт-направленного мутагенеза исследована функциональная значимость сигналов ядерной локализации и ядерного экспорта капсидных белков BgDV1 для внутриклеточной компартиментализации белков капсида денсовируса. Получены трансгенные линии дрозофил, содержащие в своем геноме как нативные последовательности кДНК капсидных белков VP2 и VP3 денсовируса, так и последовательности кДНК VP2 с нарушенным сигналом ядерной локализации и нарушенным донорным сайтом сплайсинга. Исследованы особенности экспрессии нативных и мутантных вариантов кДНК вирусных капсидных белков в трансгенных линиях дрозофилы.

Применение для достижения результатов самых современных методов анализа, таких как амплификация в реальном времени, метод секвенирования нового поколения и последующий биоинформатический анализ дал возможность Евгению Николаевичу Козлову описать различия транскриптомов между трансгенными особями *Drosophila*,

экспрессирующими нативную последовательность кДНК капсидного белка VP2 либо мутантную последовательность кДНК VP2 с нарушенным сигналом ядерной локализации. Показано, что экспрессия вирусных последовательностей, кодирующих белок с нативным сигналом ядерной локализации, связана с ослаблением транскрипционной активности генов, ответственных за врожденный иммунный ответ *Drosophila*.

Автореферат диссертации «Анализ экспрессии генов капсидных белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) в гетерологичных системах – культурах клеток млекопитающих и трансгенных линиях дрозофилы» полностью отражает суть выполненной работы, диссертация является законченным научным исследованием. Полученные результаты вносят существенный вклад в понимание природы изученного вируса и понимание функционирования антивирусных систем.

Считаю, что по актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Е.Н. Козлова полностью соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертационным работам, представляемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, а диссертант, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени.

Зав.отделом медицинской энтомологии

НИИ МПиТМ им.Е.И.Марциновского

ГБОУ Первый МГМУ им.И.М.Сеченова

доктор биологических наук

Ганушкина Людмила Алимповна

119991, Москва, ул. Трубецкая

Подпись Л.А. Ганушкиной заверю.



*Людмила*

ОДНИСЬ ЗАВЕРЯЮ

Людмила Алимповна

М.П. Ганушкина

« 21 » апреля 2016 г.

2016 г.