

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук



член-корр. РАН
Янковский Н.К.

«9» марта 2016 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

*Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии
наук*

Диссертация «Анализ экспрессии генов капсидных белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) в гетерологичных системах – культурах клеток млекопитающих и трансгенных линиях дрозофилы» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

В период подготовки диссертации с 2011 по 2016 гг. соискатель Козлов Евгений Николаевич работал в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук в должности младшего научного сотрудника.

С 2010 года по настоящее время работает в Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

В 2007г. окончил Южный Федеральный Университет по специальности «Биохимия».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2016г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук

Научный руководитель – Муха Дмитрий Владимирович, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией генетических основ биоразнообразия в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

По итогам рассмотрения диссертации «Анализ экспрессии генов капсидных белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) в гетерологичных системах – культурах клеток млекопитающих и трансгенных линиях дрозофилы» принято следующее **заключение:**

Актуальность исследования

Изучение механизмов инфицирования, реализации генетической информации вирусного генома, участие белков вируса во взаимодействии с клеткой хозяина дает возможность решать широкий круг фундаментальных задач. Одним из эффективных подходов является анализ экспрессии генов вирусных белков в гетерологичных системах, то есть с использованием модельных организмов и пересеваемых культур клеток, в норме не инфицируемых данным типом вируса.

Большинство вирусов, самосборка вирусных частиц которых происходит в ядре клеток хозяина (к их числу относится и вирус денсонуклеоза рыжего таракана BgDV1), используют генетический аппарат клетки для репликации и дальнейшей экспансии инфекции, при этом процесс транспорта вирусных частиц в ядро играет ключевую роль в жизненном цикле. Детальное изучение роли кардиофильных капсидных белков BgDV1 в данном процессе может позволить не только углубить знания о биологии вируса BgDV1, но и выявить молекулярно-генетические реакции организма-хозяина, индуцируемые внутриклеточной локализацией капсидных белков.

Известно, что капсиды парвовирусов формируются за счет самосборки капсидных белков. Процесс самосборки капсидных белков во многом

остается непонятым, в частности, из-за отсутствия адекватной модели для изучения этого процесса. Использование трансгенных линий *D. melanogaster*, экспрессирующих капсидные белки изучаемого вируса, с нашей точки зрения, может позволить ближе подойти к пониманию процесса самосборки и формирования капсидов парвовирусов. Трансгенные линии дрозофил, в клетках которых происходит формирование вирусоподобных частиц за счет самосборки капсидных белков, могут быть использованы в качестве биофабрик для наработки наночастиц с заданными свойствами, например, экспонирующими на поверхности заданные антигенные детерминанты, что может представлять интерес для разработки новых вакцинных препаратов.

Научная новизна и практическая значимость исследования

Впервые показана возможность использования пересеваемых клеточных культур клеток млекопитающих для изучения внутриклеточного транспорта капсидных белков денсовируса насекомых. Впервые экспериментально показана функциональная значимость, предсказанных методами *in silico*, сигналов ядерного транспорта (NLS и NES) капсидных белков BgDV1.

Впервые получены трансгенные линии дрозофил, содержащие в геноме как нативные последовательности кДНК капсидных белков денсовируса, так и последовательности с нарушенным сигналом ядерной локализации и донорным сайтом сплайсинга. Показано, что при экспрессии кДНК одного из капсидных белков (VP2) денсовируса рыжего таракана в тканях трансгенных дрозофил происходит сплайсинг транскрипта, препятствующий образованию нативного белкового продукта.

Впервые установлено, что изменение внутриклеточной локализации капсидного белка денсовируса рыжего таракана, экспрессируемого в трансгенных линиях *D. melanogaster*, значительно влияет на паттерн генных активностей организма-хозяина. В частности, происходит изменение активности генов, ответственных за врожденный иммунный ответ организма.

Объектом исследования диссертационной работы являлся денсовирус рыжего таракана (BgDV1), относящийся к семейству *Parvoviridae*. Большая часть вирусов подсемейства *Parvovirinae* является возбудителями опасных заболеваний человека, сельскохозяйственных и домашних животных. Представители подсемейства *Densovirinae* инфицируют беспозвоночных животных. Беспозвоночные животные, инфицированные денсовирусами, либо культуры клеток и трансгенные животные, экспрессирующие на определенной стадии развития конкретные вирусные белки, могут рассматриваться в качестве удобной модели для изучения особенностей патогенеза, характерных для всех (либо большинства) представителей семейства *Parvoviridae*. Исследование денсовирусов имеет практический интерес, поскольку некоторые из них инфицируют хозяйственно ценных насекомых и ракообразных, таких как тутовый шелкопряд и креветки. Кроме того, определенные виды денсовирусов могут рассматриваться в качестве эффективных биологических агентов для борьбы с вредными для человека насекомыми.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Работа выполнена на высоком методическом уровне, с применением как современных методов молекулярной генетики, так и классических генетических подходов. Результаты, полученные Козловым Е.Н., достоверны и воспроизводимы.

Соответствие диссертационной работы избранной специальности.

Диссертационная работа соискателя Козлова Е.Н. соответствует избранной специальности 03.02.07 – генетика (согласно п.п. 7, 10, 12, 13 Паспорта номенклатуры специальностей научных работников по данной специальности).

Личный вклад автора в исследование

Автор принимал личное участие на всех этапах выполнения работы: в планировании и осуществлении экспериментов, оценке и интерпретации их

результатов. Секвенирование нового поколения (NGS) и биоинформатический анализ данных NGS осуществлялись совместно с компанией «Евроген». Автор лично оформлял результаты для представления в виде тезисов и докладов на научных конференциях, а также являлся основным участником при написании статей по результатам работы.

Полнота изложения материалов диссертации в печатных работах

Основные положения и результаты диссертационного исследования изложены автором в 7 печатных работах, в том числе в 3 статьях по теме диссертационной работы в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Минобрнауки для опубликования основных научных результатов диссертации, в 4 тезисах, представленных на российских международных конференциях. В опубликованных работах полностью изложен материал диссертации.

Диссертация Козлова Евгения Николаевича на тему «Анализ экспрессии генов капсидных белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) в гетерологичных системах – культурах клеток млекопитающих и трансгенных линиях дрозофилы» является научно-квалификационной работой, в которой показана возможность использования культур клеток млекопитающих для изучения внутриклеточного транспорта капсидных белков денсовирусов, а также наличие функционально значимых сигналов ядерного экспорта и ядерного импорта в составе капсидных белков денсовируса BgDV1. Установлено, что гетерологичная экспрессия белка капсида BgDV1 приводит к активации механизма, выражающегося в сплайсинге РНК гетерологично экспрессируемого гена белка капсида VP2. Удаление сигнала ядерной локализации в последовательности белка VP2 при гетерологичной экспрессии гена VP2 в трансгенных линиях *Drosophila melanogaster* приводит к значительному изменению паттерна транскрипции генома дрозофилы.

Диссертация «Анализ экспрессии генов капсидных белков денсовируса рыжего таракана (BgDV1) в гетерологичных системах – культурах клеток

млекопитающих и трансгенных линиях дрозофилы» Козлова Евгения Николаевича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Заключение принято на объединенном семинаре института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Присутствовало на заседании 9 чел. Результаты голосования: «за» -9 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол от 1 марта 2016 г.

Руководитель семинара
Зав. лаб. ИОГен РАН,
д.б.н. проф.



Абилев С.К.