

## Отзыв официального оппонента

о диссертационной работе ВАТЛИНА Алексея Александровича

«Исследование генетических механизмов устойчивости и чувствительности штамма *Streptomyces fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А и его производным», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Диссертационная работа А.А. Ватлина посвящена исследованию механизмов устойчивости к макролидному антибиотику олигомицину А и его производным у штамма *Streptomyces fradiae* ATCC 19609. Этот штамм интересен тем, что сам является продуцентом макролидного антибиотика тилозина, но в то же время суперчувствителен к олигомицину А. Олигомицин А и его аналоги демонстрируют стабильную противоопухолевую активность, подавляют рост актинобактерий, однако высокая токсичность препарата не позволяет использовать его в качестве лекарственного средства. Поэтому при разработке новых препаратов необходимо создавать простые и эффективные тест-системы для идентификации биомишени, на которую действует препарат, и таким образом выявлять механизм действия исследуемого лекарственного средства. Одним из результатов, представленных в работе является заключение, что единственная известная биомишень для олигомицина А – FoF1-АТФ-синтаза слабо ингибируется олигомицином А у штамма *S. fradiae*, что может указывать на наличие двух или более биомишеней олигомицина в клетке. Фактически работа А.А. Ватлина это поиск и характеристика новых дополнительных биомишеней для современных лекарственных препаратов на основе тест-системы, включающей штамм *S. fradiae* ATCC 19609, олигомицин А и его производные. Хочется подчеркнуть, что работа доведена до логического конца и выявлены гены, определяющие устойчивость к двум производным олигомицина А. На основании характеристики этих генов сформулирован возможный механизм возникновения устойчивости штаммов

к этим производным олигомицина. Таким образом, тема диссертации является актуальной и важной как для расширения теоретических знаний в области изучения генетического контроля и регуляции клеточных процессов, так и в практическом плане для понимания возникновения механизмов устойчивости к олигомицину А и его производным.

Результаты работы являются важными с научной точки зрения. Очевидный медицинский аспект исследований добавляет актуальности тематике рассматриваемой диссертационной работы. А.А. Ватлин убедительно обосновывает актуальность исследования и четко очерчивает круг поставленных задач, объясняя новизну, теоретическую и практическую значимость работы.

Помимо научной значимости, диссертационную работу А.А. Ватлина характеризует разнообразие и объем решенных в ходе выполнения работы задач. Диссертация удачно сочетает классические методы работы с актиномицетами (тесты по определению уровня устойчивости к антибиотикам, получение мутантов, устойчивых к аналогам олигомицина и др.), методы генной инженерии, молекулярной биологии, биохимии и биоинформатики.

Диссертация построена по общепринятому плану и содержит следующие разделы: оглавления, введения, пять глав обзора литературы, описание материалов и методов исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список используемых сокращений, список цитируемой литературы, 1 приложение. Работа изложена на 143 страницах машинописного текста, включает 13 таблиц и 29 рисунков. Список используемой литературы включает 187 публикаций. Введение полностью отвечает названию диссертации, в нем ясно сформулирован круг проблем и сведения, необходимые для понимания рассматриваемых вопросов.

В пяти главах «Обзора литературы» рассмотрены механизмы действия антибиотиков различных химических классов, механизмы устойчивости к макролидным антибиотикам, известные механизмы действия олигомицина А и его производных и современные подходы поиска новых биомишеней. Все разделы «Обзора литературы» хорошо проиллюстрированы рисунками и таблицами, а список из 187 цитированных публикация говорит о глубокой проработке автором современной научной литературы по теме исследования.

Глава «Материалы и методы» полно описывает широкий спектр классических и современных методов генетики, микробиологии и биохимии, которыми владеет автор. Сюда входят методы культивирования бактерий, методы изучения экспрессии генов, полногеномного секвенирования, современные биоинформатические методы и методы для изучения АТФ-синтазной активности в клетках.

В разделе «Результаты и обсуждение» описаны полученные автором принципиально новые данные:

- Впервые проведено полногеномное секвенирование и аннотация генома штамма *S. fradiae* ATCC 19609, синтезирующего антибиотик тилозин, используемый в ветеринарии.
- Впервые выявлены механизмы возникновения устойчивости к производным олигомицина А – нитрон-олигомицину и (33S)-33-дезоксиде-33-тиоцианатоолигомицину.
- Впервые установлена биомшень действия (33S)-33-дезоксиде-33-тиоцианатоолигомицина – хеликаза IV, которая также приводит к повышению устойчивости штамма *S. fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А в 10 раз.
- Впервые показано, что олигомицин А является слабым ингибитором АТФ-синтазной активности *S. fradiae* ATCC 19609.

Полученные автором экспериментальные результаты тщательно документированы. Обоснованность полученных данных подтверждена большим количеством контрольных экспериментов, которые проводились почти на каждом этапе работы. Сама постановка экспериментов и обсуждение их результатов характеризуют А.А. Ватлина как высококвалифицированного специалиста в области генетики. Все основные результаты опубликованы в научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и иностранных рецензируемых журналах. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации. Диссертантом обоснованно и логично интерпретируются полученные данные собственных экспериментов. Выводы диссертационной работы достоверны и логично следуют из полученных автором результатов.

Возражений к защите данной работы нет, тем не менее возникают некоторые вопросы:

1. Почему были выбраны именно соединения нитрон-олигомицин и (33S)-33-дезоксигуанидин-33-тиоцианатоолигомицин для дальнейшей работы по получению мутантных штаммов *S. fradiae* ATCC 19609, устойчивых к производным олигомицину А?
2. Частота возникновения мутантов, устойчивых к производным олигомицина А достаточно низка. Сколько реально было выявлено мутантов, каким образом они были охарактеризованы и на основании чего был отобран один мутант для проведения дальнейших исследований?
3. В работе присутствуют небольшие пунктуационные и грамматические опiski.

*Заключение о научно-практической ценности работы и ее соответствие требованиям ВАК*

Диссертационная работа Ватлина А.А. представляет собой самостоятельный научный труд, в котором решаются задачи, имеющие существенное значение для генетики, микробиологии и практической медицины. Достоверность и обоснованность экспериментальных результатов и выводов не вызывает сомнения. В целом, работа соответствует требованиям ВАК РФ и Постановлению Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г «О порядке присуждения научных степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Ватлин Алексей Александрович, безусловно, заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07. – Генетика.

Воейкова Татьяна Александровна

К.б.н., Главный научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного

учреждения «Государственный научно-

исследовательский институт генетики

и селекции промышленных микроорганизмов»

117545, Россия, г. Москва, 1-й Дорожный проезд, дом № 1.

8(495) 315-37-01. [voeikova.tatyana@yandex.ru](mailto:voeikova.tatyana@yandex.ru)



Подпись руки Воейковой Т.А. заверяю,

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного

учреждения «Государственный научно-исследовательский институт генетики

и селекции промышленных микроорганизмов», к.х.н., доцент

03 апреля 2017 г.



Яроцкий С.В.