

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ

Ватлина Алексея Александровича «Исследование генетических механизмов устойчивости и чувствительности штамма *Streptomyces fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А и его производным», представленный на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Диссертационная работа Ватлина А.А. посвящена изучению механизмов устойчивости к олигомицину А и его производным на основе сверхчувствительного штамма *Streptomyces fradiae* ATCC 19609. По литературным данным известно, что олигомицин А взаимодействует с одной биомишенью в клетке, а именно – FOF1-АТФ синтазу. Однако в работе Ватлина А.А. было выявлено, что при концентрации антибиотика 100мМ, ингибирование АТФ-синтазной активности в везикулах *Streptomyces fradiae* ATCC 19609 происходило примерно на 30%, что косвенно подтверждает наличие дополнительных биомишеней в клетке. Попытка получить мутантные штаммы, устойчивые к олигомицину А не увенчались успехом, что также может объясняться множественностью мишеней антибиотика в клетке. В связи с этим поэтому автором было предложено получить синтетические производные к олигомицину А модифицированные как по макролактонному кольцу, так и по С33 положению, которое, по литературным данным, участвует в связывании олигомицина А с FOF1-АТФ синтазой. По-видимому, данные аналоги антибиотика, должны были слабее взаимодействовать с FOF1-АТФ синтазой и позволить выявлять организмы с одиночными резистентными мутациями, указывающими на альтернативные мишени антибиотика. При использовании полусинтетических производных олигомицина А были получены мутантные штаммы, устойчивые к (33S)-33-

Дезокси-33-тиоцианатоолигомицину и нитрон-олигомицин. Автором было проведено полногеномное секвенирование полученных штаммов, для выявления в них мутаций, которые могут быть вовлечены в процесс формирования устойчивости к олигомицину А и его производным. Было обнаружено, что мутация в гене хеликазы IV класса, может быть вовлечена в процесс формирования устойчивости к (33S)-33-Дезокси-33-тиоцианатоолигомицину, а мутация, приводящая к замене аминокислоты ДНК-связывающего домена транскрипционного регулятора PadR, может быть вовлечена в процесс формирования устойчивости к нитрон-олигомицину, а также данный ген может быть вовлечен в процесс спорулирования и дифференциации. Ватлиным Алексеем Александровичем проведена большая и разноплановая работа с использованием большого количества методов. Применение в работе современных методов, таких как амплификация в реальном времени, полногеномное секвенирование и последующий биоинформатический анализ позволил автору выполнить все поставленные задачи.

К данной работе имеется несколько небольших замечаний:

- 1). Не указано, как конкретно проводились исходные попытки получить мутации устойчивые к олигомицину А. По-видимому, эта работа выходит за рамки данной работы.
- 2). В главе “научная новизна” указано, что “хеликаза IV, мутация в гене которой приводит к снижению чувствительности штамма *S. fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А в 10 раз”, однако в других главах об этом важном результате ничего не сказано.
- 3). Автор указывает что “Олигомицин А является высокоспецифичным ингибитором окислительного фосфорилирования в митохондриях эукариот, его действие приводит к остановке процесса синтеза АТФ”, и, в то же время

в данной работе показано, что этот антибиотик уменьшает активность FOF1-АТФ синтеза только на 30%. Возможно, стоило дать пояснение как частичное снижение активности могло привести к остановке синтеза АТФ в митохондриях.

4). Вызывает удивление, что название отдельных ферментов приводится по-русски, а других на английском. Особенно это заметно в фразе “Белки щелочной фосфатазы и alanine dehydrogenase”

Несмотря на указанные замечания, считаю, что по актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Ватлина А.А. полностью соответствует критериям (пп. 9-14) «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. за №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, по специальности 03.02.07 – генетика, а диссертант, безусловно, заслуживает присуждение искомой степени.

Кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

Почтовый адрес: ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д.32.

Телефон: 89266802982; Электронная почта: shvarec@yandex.ru

Шварц Антон Маркович

