

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

**А.А. Ватлина «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 Алексея Александровича посвящена получению мутантных штаммов *S. fradiae* ATCC 19609, устойчивых к олигомицину А и его синтетическим производным, и изучение механизмов устойчивости.

На данный момент ведутся работы по получению новых полусинтетических производных олигомицина А, что поможет снизить его токсичность с сохранением терапевтических свойств для дальнейшего использования его в качестве лекарственного средства при проведении химиотерапии или лечении инфекционных заболеваний. Производные штамма *S. fradiae* ATCC 19609 являются сверхчувствительным к большинству известных антибиотиков, в том числе к олигомицину А. Развитие технологий высокопроизводительного секвенирования сделало возможным получение полногеномных последовательностей огромного вида и штаммов бактерий. На основе данных высокопроизводительного секвенирования в работе впервые отсеквенирован штамм *S. fradiae* ATCC 19609 и его мутанты и проведен анализ генома.

Необходимо отметить значительную важность такого рода исследования не только для решения фундаментальных проблем, но и для решения практических задач. К примеру, как излагает Алексей Александрович, штамм *S. fradiae* ATCC 19609 и полученные мутантные штаммы, устойчивые к производным олигомицина А, могут быть использованы как комплексная тест-система для проверки активности новых природных антибиотиков и их полусинтетических производных, в том числе активных в отношении патогенных штаммов бактерий.

Диссертантом были поставлены следующие задачи:

1. Определение уровня чувствительности лабораторного штамма *S. fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А и его производным.
2. Секвенирование генома штамма *S. fradiae* ATCC 19609 и аннотация генов, потенциально вовлеченных в процесс формирования устойчивости к олигомицину А и его производным.

3. Получение и характеристика мутантных штаммов *S. fradiae* ATCC 19609, устойчивых к производным олигомицина А (Olg1, Olg4).

4. Полногеномное секвенирование отобранных Olg(1,4)R штаммов и проведение сравнительного геномного анализа устойчивых штаммов и штамма дикого типа для идентификации мутаций, которые привели к возникновению Olg(1,4)R фенотипа.

5. Изучение молекулярных механизмов устойчивости у полученных мутантных штаммов к олигомицину А и его производным с помощью транскрипционного и протеомного анализа.

В автореферате приводится краткая информация о достигнутых результатах. В целом, работа является актуальной, поскольку автором выявлен механизм возникновения устойчивости к производным олигомицина А – нитрон-олигомицину и (33S)-33-дезоксидезокси-33-тиоцианатоолигомицину, который обусловлен мутацией в гене PadR и может быть вовлечен в регуляцию выброса антибиотика из клетки. Тем не менее, при чтении автореферата возникло несколько замечаний:

1. В разделе «Разработанность темы исследования» упоминается «в дальнейшем планировалось...». На мой взгляд, не логично в данном разделе указывать о дальнейших перспективах.

2. В разделе «Материалы и методы» и «Результаты» появляются штаммы *S. lividans* 66 и *S. albus* ATCC 21132. Изначально стоило бы их упомянуть в задаче №1 «Определение уровня чувствительности лабораторного штамма *S. fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А и его производным относительно модельных штаммов *S. lividans* 66 и *S. albus* ATCC 21132», так как в разделе «Выводы» они тоже фигурируют. Так же в автореферате не приводится обоснование, почему именно эти штаммы являются «модельными».

3. На стр. 13 автореферата после фразы «... в настоящей работе мы получили мутантные штаммы...» стоило дать название и характеристику новым полученным мутантным штаммам и по тексту далее применять их названия, чтобы было ясно о каких мутантных штаммах идет речь.

4. Большая часть автореферата посвящена мутантным штаммам *S. fradiae* ATCC 19609, поэтому в выводах необходимо было отметить сколько в итоге получено мутантных штаммов и дать их краткую характеристику, так как изначально ставилась такая задача №3: получение и характеристика мутантных штаммов *S. fradiae* ATCC 19609, устойчивых к производным олигомицина А (Olg1, Olg4).




5. На стр. 16 есть ссылка на рисунок 6: результаты масс-спектрометрического анализа: «Ген alanine dehydrogenase штамма *S. fradiae*-nitR+bld имел кратное уменьшение экспрессии в log фазе относительно штамма дикого типа, что соответствует результатам масс-спектрометрического анализа (Рисунок 6)». При этом рисунок 6 называется: «Изменение уровня экспрессии генов...». Вопрос: где рисунок «результаты масс-спектрометрического анализа» и где ссылка в тексте на рисунок «Изменение уровня экспрессии генов...»?

6. Для поиска изменений в геномах мутантных штаммов было выполнено полногеномное секвенирование этих штаммов. Это один из подходов решения задачи (главный минус, что секвенируется большая часть генома и так же есть вероятность, что нужный участок может не отсеквенироваться или покрытие будет не достаточно для определения мутации). Автору можно было бы провести поиск неизвестных мутаций с помощью qPCR (HRM-анализ). Анализ кривых плавления позволяет определять наличие вариаций в исследуемом фрагменте (при условии, что есть референс, в котором достоверно известно наличие/отсутствие вариации).

Несмотря на высказанные замечания, следует подчеркнуть большую научную значимость, новизну и актуальность работы.

Диссертационная работа А.А. Ватлина соответствует критериям “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика».

Старший научный сотрудник ИОГен РАН, к.б.н.  Ксения Михайловна Климина  
Специальность 03.02.07 – генетика

05 мая 2017 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)  
119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д.3; тел: 8(499)135-62-13, iogen@vigg.ru

Подпись К.М. Климиной заверяю:

Ученый секретарь ИОГен РАН, д.б.н.

