

Отзыв

на автореферат диссертации 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.

Знание механизмов защищающих клетки от действия антибактериальных и токсических агентов, а также мишеней, на которые эти агенты действуют в живой клетке, облегчает создание новых лекарственных препаратов, таких как антибиотики и противоопухолевые препараты.

Одним из методов для выявления таких механизмов является получение мутантов, устойчивых к антибактериальным и токсическим агентам и определение полученных мутаций.

Представляемая к защите работа Ватлина А.А. посвящена поиску механизмов устойчивости к олигомицину А, препарату обладающим цитотоксическим действием в отношении опухолевых клеток и антибактериальным в отношении некоторых актинобактерий, в том числе вызывающих актиномикозы, применение которого в клинической практике, однако, затрудняет его токсичность. Основным механизмом действия олигомицина А на клетки считается ингибирование активности FoF1-АТФ-синтазы.

В качестве тестового организма для исследования был выбран штамм *Streptomyces fradiae* ATCC 19609. Отличительной особенностью этого микроорганизма является повышенная чувствительность к большинству известных антибиотиков, в том числе к олигомицину А, что делает его интересным и перспективным объектом для подобных исследований. Тот факт, что ранее не удалось получить мутантов *S. fradiae* ATCC 19609 устойчивых к этому антибиотику позволяет предположить наличие нескольких биомишеней для олигомицина А в этом организме.

В связи вышеупомянутыми трудностями, связанными с получением мутантов, устойчивых к олигомицину А, автором было предложено получать мутантов к химическим производным этого препарата, основываясь на предположении, что производные действуют на меньшее количество мишеней в клетке.

Действительно, в результате проведенных экспериментов были получены мутанты, устойчивые к двум производным олигомицина А, нитрон-олигомицину и (33S)-33-дезоксидезокси-33-тиоцианатоолигомицину. Мутации, обуславливающие повышение устойчивости, были определены с помощью полногеномного секвенирования. Кроме того, в результате проделанной автором работы был получен ряд важных результатов. В частности, в результате секвенирования генома *S. fradiae* ATCC 19609 был найден ряд последовательностей, гомологичных генам кодирующим устойчивость к антибиотикам у бактерий и показано отсутствие ряда других генов устойчивости, присутствующих у других микроорганизмов; показано, что одной из причин повышенной чувствительности *S. fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А, является точечная замена в гене хеликазы IV в положении консервативном у многих микроорганизмов. Таким образом, показана важная роль хеликазы IV в формировании устойчивости к антибиотикам. Кроме того было показано, что один из механизмов устойчивости штамма *S. fradiae* ATCC 19609 к нитрон-олигомицину А обусловлен мутацией в

гене *padR*, кодирующем полифункциональный транскрипционный регулятор. Также были получены результаты, указывающие на регуляцию экспрессии гена *marR*, кодирующего глобальный регулятор транскрипции, регулятором PadR и была предложена модель регуляции экспрессии генов регулятором PadR. Было показано, что олигомицин А является слабым ингибитором АТФ-синтазной активности *S. fradiae* ATCC 19609, что подтверждает гипотезу о наличии других биомишеней для этого вещества в *S. fradiae* ATCC 19609.

К недостаткам автореферата следует отнести неоправданное использование английских названий ферментов, вызывающее иногда забавные опечатки типа «щелочная alkaline phosphatase». Кроме того, представляется излишним указание долей процента на диаграмме (Рисунок 2) в то время как обозначенные на диаграмме значения погрешностей составляют несколько процентов. Также вызывает вопросы, указанная на том же рисунке и в тексте, степень ингибирования АТФ-синтазной активности выше 100%. Конечно, перечисленные недостатки не вызывают сомнений в достоверности полученных результатов и не снижают их важность.

Суммируя вышесказанное, содержание автореферата позволяет заключить, что научная новизна и практическая значимость работы не вызывает сомнений; объем экспериментальных исследований достаточен, использованные методики современные и адекватны поставленным целям и задачам. Выводы исследования соответствуют результатам диссертационной работы.

Таким образом, работа Ватлина Алексея Александровича «Исследование генетических механизмов устойчивости и чувствительности штамма *Streptomyces fradiae* ATCC 19609 к олигомицину А и его производным» полностью удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 «генетика», а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук.

Старший научный сотрудник лаборатории № 2
Закрытого акционерного общества «Научно-исследовательский
институт Аджиномото-Генетика» (ЗАО «АГРИ»), к.б.н.

Серебряный В.А.

Адрес института: 117545, г. Москва, 1-ый дорожный проезд, дом 1, корпус 1.
Телефон лаборатории: +7-495-780-33-78 доб. (*) 404
e-mail: Vsevolod_Serebrianyi@agri.ru

Подпись Серебряного В. А. заверяю
Секретарь ЗАО «АГРИ»

Некошнова Е. И.

27 апреля .2017

