

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Рудаковой Натальи Николаевны

«Экспрессия генов и структурно-функциональный анализ аминогликозидтрансфераз *Streptomyces rimosus*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика

С момента открытия в 40-х годах прошлого столетия и до нашего времени аминогликозидные антибиотики широко применяются в клинической практике. Однако, появление патогенных бактерий, устойчивых к антибиотикам, создает серьезную проблему для общественного здравоохранения во всем мире. Среди многих известных механизмов устойчивости к аминогликозидам наиболее распространенной в клинических условиях является ферментативная модификация этих антибиотиков. Помимо разработки новых аминогликозидов, устойчивых к как можно большему количеству модифицирующих ферментов, в настоящее время существует две основные стратегии, направленные на преодоление действия ферментов, модифицирующих аминогликозиды. Эти стратегии заключаются в разработке ингибиторов ферментативного действия или экспрессии модифицирующих ферментов, что продлило бы возможность использования существующих антибиотиков, которые доказали свою эффективность в лечении инфекций. Успешная разработка подобных ингибиторов требует изучения экспрессии генов, кодирующих ферменты, модифицирующие аминогликозидные антибиотики, а также структур и функций этих ферментов, что определяет безусловную актуальность выбранной темы диссертации Рудаковой Н.Н. и очевидную практическую значимость полученных результатов.

В ходе работы Рудаковой Н.Н. была исследована устойчивость штамма *Streptomyces rimosus* ATCC 10970 к аминогликозидным антибиотикам в сравнении с модельным штаммом *S. lividans* 66, проведен биоинформатический анализ *aph*-генов, выявивший в геноме штамма *S. rimosus* ATCC 10970 четырнадцать генов, кодирующих аминогликозидфосфотрансферазы, с последующим клонированием двух из этих генов (*aph(3'')-Id* и *aphSR2*) в *E. coli*. Впервые был биохимически охарактеризован фермент *Aph(3'')-Id*, для которого были получены трехмерные структуры в апо-форме и в комплексе со стрептомицином и АДФ и показана способность к автофосфорилированию *in vitro*. Было выявлено и изучено влияние генов серин-треониновых протеинкиназ на повышение устойчивости бактериальных клеток к неомицину и гигромицину при совместном клонировании гена аминогликозидфосфотрансферазы *aphSR2* и генов *pkSR1* и *pkSR2*, локализованных в одном кластере генома *S. rimosus* subsp. *rimosus* ATCC 10970. Был осуществлен транскрипционный анализ экспрессии 18 генов резистомы *S. rimosus* ATCC 10970, показавший, что стрептомицин индуцирует экспрессию гена *tetR*, кодирующего



транскрипционный регулятор. Было установлено, что экспрессия гена *aacSR*, кодирующего аминогликозид-2'-N-ацетилтрансферазу AacSR, обеспечивает устойчивость клеток *E. coli* к широкому спектру аминогликозидных антибиотиков.

Достоверность и новизна полученных результатов не вызывают сомнений. Выводы адекватно отражают результаты работы, конкретны и подтверждены большим количеством экспериментального материала. Результаты работы опубликованы в 5 статьях в журналах, рекомендованных ВАК, и представлены на нескольких конференциях.

#### Замечания:

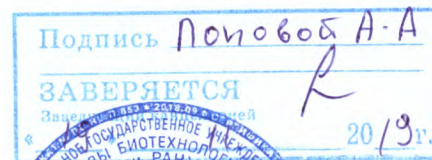
1. В заголовке «Аминогликозидфосфотрансфераза *aph(3'')-Id* (*aphSR3*) – биоинформатические, функциональные и структурные характеристики» на стр. 11 и в предложениях «Далее проводили определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) стрептомицина для аминогликозидфосфотрансферазы *aph(3'')-Id...*» и «В ходе проведения экспериментальной работы было установлено, что в условиях экспрессии *aph(3'')-Id* в штамме *E. coli* BL21(DE3) минимальная ингибирующая концентрация стрептомицина...» на стр. 13 есть небольшая путаница с обозначениями, так как *aph(3'')-Id* (*aphSR3*) – это обозначение гена, а не белка аминогликозидфосфотрансферазы. Корректно было бы обозначать белок, не используя курсив, - APH(3'')-Id.
2. В автореферате встречается фраза «ген, аннотированный как аминогликозид-2'-N-ацетилтрансфераза», «гены, аннотированные как аминогликозидтрансферазы», корректно – «гены, аннотированные как кодирующие аминогликозидтрансферазы».
3. Название фермента «ГТФаза» на стр. 20 приведено на английском языке, хотя названия других белков в работе даны на русском языке.
4. Незначительные опечатки на стр. 5 в слове «аминогликозидам», в названии “Fermentas” на стр. 12 и в выводе 4 на стр. 23, где написано: «...серин-треониновая протеинкиназа PkSR1 оказывают влияние...» вместо «оказывает влияние».

Замечания носят рекомендательный характер и совершенно не снижают значения представленных в автореферате диссертации результатов и общее благоприятное впечатление, производимое работой.

Диссертационная работа Рудаковой Н.Н. является научно-квалификационной работой, которая полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук и изложенным в части II «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года. При этом автор диссертации

Рудакова Н.Н. безусловно заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Старший научный сотрудник лаборатории  
метаболизма экстремофильных прокариот,  
ФИЦ «Биотехнологии» РАН,  
кандидат биологических наук  
(специальность 03.02.07 – Генетика)



Александра Антоновна Попова

18 ноября 2019 г.

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ «Биотехнологии» РАН)  
119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2,  
Телефон: +7 967 196 53 12  
Эл. адрес: alexandra.a.popova@gmail.com