

## 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

Устойчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам имеет огромное социально-экономическое значение и в развитых странах мира рассматривается как угроза национальной безопасности. Известно, что распространение генов лекарственной устойчивости осуществляется не только путем передачи клинических штаммов бактерий: основным источником таких генов являются почвенные бактерии. Одним из перспективных путей решения этой проблемы является исследование почвенных бактерий как резервуара генов лекарственной устойчивости. Диссертация Натальи Николаевны посвящена изучению экспрессии, структуры и функций ферментов из семейства аминогликозидтрансфераз *Streptomyces rimosus*. Аминогликозидтрансферазы модифицируют аминогликозиды – одни из доступных и широко применяемых в современной клинической практике антибиотиков. Актинобактерии рода *Streptomyces* содержат наибольшее количество аминогликозидтрансфераз. Таким образом, исследование Рудаковой Н.И. представляется актуальным, имеющим научную и практическую новизну.

Как можно судить по автореферату, диссертационная работа Рудаковой Н.И. построена традиционным образом и выполнена на высоком методическом уровне. В рамках данной работы проведено изучение экспрессии и функций генов, аннотированных как аминогликозидтрансферазы, штамма *Streptomyces rimosus subsp. rimosus* ATCC 10970, и оценен их вклад в устойчивость к аминогликозидным антибиотикам. Работа выполнена с использованием большого количества разнообразных экспериментальных методов: методов стандартных дисков, линейных разведений, генной инженерии, электрофореза белков, тонкослойной хроматографии с [ $\gamma$ - $^{32}$ P]-АТФ, использованием люминесцентной реакции для анализа фосфотрансферазной активности белков, оценки уровня экспрессии генов и т.д. Кроме того, в работе активно использовались подходы современной биоинформатики.

В работе показано, что аминогликозидфосфотрансферазы сходны по структуре и функциям с эукариотическими протеинкиназами и могут обладать способностью к автофосфорилированию, серин-треониновые протеинкиназы оказывают влияние на модуляцию уровня устойчивости к аминогликозидным антибиотикам у бактерий рода *Streptomyces*, устойчивость к аминогликозидам у представителей рода *Streptomyces* может быть обусловлена не только аминогликозидфосфотрансферазами, но и другими ферментами. В процессе работы были обнаружены новые гены аминогликозидфосфотрансфераз, одиннадцать генов были клонированы в *E. coli*. Показано, что в данных условиях происходит экспрессия четырех генов, продукты наработаны и изучены. Проведен структурный анализ двух 3D-структур AphSR2, полученных коллегами, в ходе анализа установлено, что AphSR2 состоит из каталитического домена, АТФ-связывающего домена и субстратсвязывающего кармана.

Есть небольшие замечания к автору диссертации:

1. На с. 10 автореферата написано, что «Сравнительный анализ аминокислотных

последовательностей *aph*-генов *S. rimosus* ATCC 10970 показал, что они имеют низкую гомологию друг с другом (26-36%)». Неясно, что автор имел в виду: анализ нуклеотидных последовательностей *aph*-генов или же анализ аминокислотных последовательностей АРН-белков? Во втором случае это не такая уж и низкая гомология.

2. На с. 12 аминокислотные остатки, по которым может происходить фосфорилирование, для серина приводятся в однобуквенной системе (S<sub>61</sub>, S<sub>64</sub>, S<sub>99</sub>, S<sub>240</sub>), а для тирозина – в трехбуквенной (Tyr<sub>219</sub>).
3. Хотя большая часть белков в автореферате и написана на русском языке, периодически встречаются написания белков на английском языке, например, «GTPase» (ГТФаза), «N-acetyltransferase» (N-ацетилтрансфераза).

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 5 статей в ведущих научных журналах. В целом, диссертационная работа Рудаковой Н.И. представляет собой самостоятельное, логически завершенное исследование. Результаты представляют интерес для научного сообщества. Работа выполнена и оформлена на высоком профессиональном уровне, соответствует требованиям, предъявляемых к диссертациям, а ее автор Рудакова Н.И. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Доктор медицинских наук (03.02.03 – микробиология),  
заведующая отделом микробиологии,  
клинической фармакологии и эпидемиологии  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова» Минздрава России,  
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4,  
priput1@gmail.com, +7 910 414 56 16

Припутневич Татьяна Валерьевна

11.11.2019

Подпись Припутневич Татьяны Валерьевны заверяю:  
Ученый секретарь  
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»  
Минздрава России,  
кандидат медицинских наук, доцент



С.В. Павлович