

**ОТЗЫВ**  
на автореферат диссертационной работы  
**Рудаковой Натальи Николаевны**  
**«Экспрессия генов и структурно-функциональный анализ**  
**аминогликозидтрансфераз *Streptomyces rimosus*»,**  
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Множественная лекарственная устойчивость патогенных бактерий в настоящее время является одной из наиболее актуальных проблем в области здравоохранения во всем мире. Эта проблема усугубляется тем, что разработка новых лекарственных препаратов не поспевает за быстрым и непрерывным появлением штаммов патогенов, устойчивых к известным антибиотикам. Кроме того, непрерывно растущее число госпитальных инфекций со множественной лекарственной устойчивостью повысило интерес к проблеме антибиотикорезистентности и изучению механизмов данного явления. Аминогликозиды – это группа антибиотиков, продуцируемых бактериями рода *Streptomyces*, которые используются в клинической практике более 50 лет. Первые устойчивые штаммы бактерий начали появляться в 1960-х годах из-за высокой скорости распространения генов лекарственной устойчивости посредством R-плазмид, транспозонов и интегронов. В попытке преодолеть эту устойчивость к природным антибиотикам, в 1970-х годах были созданы первые полусинтетические аминогликозиды, такие как амикацин, изепамицин и нетилмицин. В настоящее время существует большое количество аминогликозидных антибиотиков, но спектр их применения сужается из-за наличия резистентности к ним. Распространенный механизм устойчивости бактерий к аминогликозидам заключается в ферментативной модификации молекулы антибиотика. Именно поэтому изучение аминогликозидтрансфераз, ферментов, модифицирующих аминогликозиды, а также анализ механизмов их функционирования, является актуальной и важной задачей биологии и медицины.

В своей диссертационной работе Рудакова Н.Н. выполнила сложную и многокомпонентную работу по изучению аминогликозидтрансфераз *S. rimosus* ATCC 10970. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических, биоинформатических, микробиологических и биохимических методов.

Известно, что актинобактерии рода *Streptomyces* не являются продуцентами аминогликозидных антибиотиков. Однако диссертантом впервые у одного из представителей этого рода, *S. rimosus* ATCC 10970, был идентифицирован ген *aph(3'')-Id*, кодирующий стрептомицин фосфотрансферазу. На следующем этапе работы, автором показана способность белка Aph(3'')-Id автофосфорилироваться *in vitro*. В этом отношении белок Aph(3'')-Id является уникальным, поскольку известные представители семейства аминогликозид-модифицирующих ферментов бактерий такой способностью не обладают.

Научные результаты автора и полученный им биологический материал позволил коллегам из института биохимии им. А.Н.Баха и НИЦ Курчатовского института построить 3D структуру фермента.

Следует отметить научную обоснованность и адекватный выбор подходов и методов, использованных в работе для решения поставленных задач, что позволило автору получить достоверные результаты, свидетельствующие о самостоятельности и завершенности исследования. Автором получены оригинальные данные, представляющие большой научный интерес. Достоверность и новизна полученных результатов не вызывают сомнений.

Вместе с тем, не могу не сделать несколько замечаний грамматического и стилистического характера. Автор чрезвычайно увлекается словом штамм, без которого в тексте работы можно прекрасно обойтись, зачем каждый раз повторять «**штамм S. rimosus ATCC 10970**», разве без слова штамм это будет уже другой объект? Однако в названии самой диссертационной работы название подштамма **ATCC 10970** по непонятной причине отсутствует.

Далее, в конце заголовков автор ставит точки, что неправильно и, что, в ряде случаев, затрудняет чтение. Например:

**«Анализ устойчивости бактерий к антибиотикам.**

Проводили с использованием стандартных методов: линейных разведений, бумажных дисков....».

По стилю:

**«Для клонирования гена aph(3'')-Id (aphSR3) в штаммы E. coli», «При секвенировании генома в штамме...», «В штамме S. rimosus ATCC 10970 впервые идентифицирован и биохимически охарактеризован новый ген...».** Наверное, автор имел в виду **«У S. rimosus ATCC 10970 идентифицирован новый ген и биохимически охарактеризован кодируемый им белок».**

Замечания по выводам:

Первый вывод диссертации по стилю также далек от совершенства:

**«Впервые для актинобактерий** рода *Streptomyces*, не являющихся продуцентами аминокликозидных антибиотиков, **для штамма S. rimosus ATCC 10970 идентифицирован ген aph(3'')-Id, кодирующий стрептомицин фосфотрансферазу, биохимически охарактеризован фермент Aph(3'')-Id».** Как можно идентифицировать ген для бактерий или штамма?

Третий вывод гласит: **«Впервые для аминокликозидфосфотрансфераз подсемейства Aph(3'') получены трехмерные структуры белка Aph(3'')-Id из штамма S. rimosus ATCC 10970 в апо-форме и в комплексе со стрептомицином и АДФ».** Однако ранее в тексте автореферата написано: **«На следующем этапе работы проводили наработку биомассы E. coli, содержащую ген aph(3'')-Id, с целью получения 3D структуры фермента (получена коллегами из института биохимии им. А.Н.Баха и НИЦ Курчатовского института – К.М. Бойко, А.Ю. Николаевой и Д.А. Корженевским, рисунок 7).**

Так кем все-таки получены эти результаты? Правомерность этого вывода остается под вопросом.

По теме диссертационной работы опубликовано 5 печатных работ в журналах, включенных в Перечень научных изданий для опубликования результатов диссертационных исследований, утвержденный ВАК. Основные положения работы были представлены на международных и российских конференциях.

Тщательный анализ автореферата позволяет заключить, что исследование соответствует критериям Положения о порядке присуждения ученых степеней. Автор **Рудакова Наталья Николаевна** заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Доктор биологических наук, профессор  
Зинченко Владислав Владимирович



Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова  
119234, ГСП-1, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12  
Тел. 8 (495) 939-32-26

8.11.2019

