

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

На диссертационную работу **Марии Вячеславовны Якуниной**
«Функциональная активность и биохимические свойства невирионной
многосубъединичной РНК-полимеразы бактериофага *phiKZ*»,
представленную к защите на соискание учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология»

Диссертационная работа М.В. Якуниной, представляемая на защиту, посвящена комплексному исследованию новой необычной многосубъединичной РНК-полимеразы гигантского бактериофага *Pseudomonas aeruginosa phiKZ*. Последнее десятилетие в мировой научной литературе наблюдается устойчивая тенденция по углублению и расширению исследований молекулярных механизмов регуляции клеточной транскрипции в условиях вирусной инфекции. Эта тема чрезвычайно разнообразна, отличается новизной научных результатов и имеет потенциальное прикладное значение с точки зрения разработки специфических противовирусных препаратов, а также биотехнологии.

Особенно интересны для исследования крупные вирусы с большими геномами, которые кодируют множество регуляторных и функциональных факторов, позволяющих осуществлять метаболические функции вируса с меньшей зависимостью от клетки хозяина. В частности, участие собственных РНК-полимераз позволяет вирусам рационально решать задачу инициации собственной транскрипции и обхода защитных систем инфицированной клетки. В силу изолированного эволюционного развития вирусные полимеразы зачастую имеют «неканоническое» строение и регуляцию активности. Бактериофаг *phiKZ* относится к вирусам, имеющим два каскада генов, кодирующих РНК-полимеразы необычного состава.

Таким образом, задачи, поставленные диссертантом в работе – изучение регуляции экспрессии генов *phiKZ* во времени, исследование зависимости транскрипции от транскрипционного и трансляционного аппаратов клетки-

хозяина *P.aeruginosa*, выделение и очистку комплекса невирионной РНК-полимеразы ϕ KZ и изучение ее функциональной активности и промоторной специфичности - имеют несомненную фундаментальную значимость и новизну.

Диссертация М.В. Якуниной построена по традиционному плану. Она состоит из введения, обзора литературы (23 стр), материалов и методов исследования (7 стр) , результатов и их обсуждения (26 стр), выводов и списка использованной литературы (124 ссылки). Работа изложена на 85 страницах текста и иллюстрирована 28 рисунками, 3 таблицами и 1 приложением.

В разделах «Введение» и «Обзор литературы» (5 глав) автор дает обоснование актуальности исследования, краткое описание инфекционного цикла вирусов бактерий, анализ публикаций, посвященных исследованию регуляции транскрипции в модельных подробно изученных бактериофагах *E.coli* T4, T7 и λ , обзор фрагментарной информации о необычных («неканонических») РНК-полимеразах, обнаруженных у вирусов. Также подробно суммированы данные об основном объекте исследований – гигантском бактериофаге ϕ KZ и родственных ему вирусам.

Следует отметить аналитическую глубину и чёткость обзора литературы, критическую оценку имеющейся информации, полноту охвата данных, имеющих непосредственное отношение к результатам, полученным в ходе выполнения данной диссертационной работы. Обзор литературы представляет собой важную самостоятельную часть работы, в должной мере обосновывает поставленную цель и задачи исследования, и может быть полезен для широкого круга исследователей, работающих в области молекулярной вирусологии.

Методическая часть диссертации М.В. Якуниной заслуживает весьма положительной оценки. Диссертант исчерпывающе владеет наиболее современными на момент выполнения работы биоинформационными, биофизическими и молекулярно-биологическими методами, необходимыми

для решения поставленных задач. Все применённые в работе методики описаны с уровнем детализации, достаточным для независимого воспроизведения в лаборатории.

Раздел «Результаты и обсуждение» включает пять глав, описывающих проведенные эксперименты. Разделы написаны убедительно и основательно иллюстрированы. Выводы полностью соответствуют полученным результатам.

Материалы, полученные при выполнении работы, изложены в 8 публикациях (3 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ для защиты диссертаций и 5 тезисах конференций). Две статьи опубликованы в международных изданиях, включая такое авторитетное издание, как *Nucleic acid research* (индекс цитируемости 9.2). Таким образом, по степени представленности результатов в публикациях и их апробации на конференциях диссертация М.В. Якуниной полностью соответствует требованиям ВАК РФ. Автореферат отражает основное содержание работы.

Замечание по работе, которое имеет смысл высказать, носит дискуссионный характер и отражает прогресс в геномике и биологии бактериофагов за последнее десятилетие. В 2000-х годах бактериофаги типа ϕ KZ безусловно рассматривались в качестве кандидатов для фаговой терапии. Однако некоторые их свойства, обнаруженные с тех пор: затрудненная диффузия из-за большого размера, неспособность преодолевать полисахариды биопленок и, в особенности, необычное «псевдолизогенное» состояние, ограничивают на текущий момент потенциал прикладного применения ϕ KZ-подобных фагов.

Однако это замечание ни в коей мере не ставит под сомнение достоверность результатов диссертации и её выводов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Марии Вячеславовны Якуниной «Функциональная активность и биохимические свойства невирионной многосубъединичной РНК-полимеразы бактериофага phiKZ», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология», является законченным научно-квалификационным исследованием, выполненным под руководством д.б.н., профессора К.В. Северинова.

Автореферат диссертации М.В. Якуниной и опубликованные ею материалы достаточно полно отражают содержание данного труда. Диссертантом проделан значительный объем работы, получены новые интересные данные, которые внесли существенный вклад в понимание процесса инфекции, осуществляемой бактериальными вирусами.

В соответствии с вышеизложенным, диссертационная работа М.В. Якуниной соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Якунина Мария Вячеславовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – «молекулярная биология».

Заведующий лабораторией Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук доктор химических наук,



К.А. Мирошников

г. Москва, 117997 ул. Миклухо-Маклая д.16/10

тел. (495) 335-55-88

Email kmi@ibch.ru

01 декабря 2016 г.

Подпись Константина Анатольевича Мирошникова заверяю

Ученый секретарь ИБХ РАН

доктор физико-математических наук

Олейников Владимир Александрович

