

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Якуниной Марии Вячеславовны
«Функциональная активность и биохимические свойства невирионной
многосубъединичной РНК-полимеразы бактериофага phiKZ», представленной на
соискание ученой степени кандидата биологических наук
(специальность 03.01.03 – молекулярная биология)

Диссертационная работа Якуниной М.В. посвящена исследованию новых уникальных РНК-полимераз, кодируемых в геномах некоторых бактериофагов (phiKZ и его родственников). Безусловная фундаментальная важность работы определяется тем, что данные РНК-полимеразы являются эволюционными родственниками клеточных РНК-полимераз, но значительно отличаются от них по структуре и функциональным свойствам. Результаты работы важны для понимания происхождения, эволюции и функций многосубъединичных РНК-полимераз. Кроме того, исследования новых РНК-полимераз могут иметь и важное практическое значение, в частности, для разработки новых систем высокоэффективной экспрессии генов.

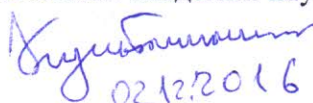
В работе Якуниной М.В. проведен анализ экспрессии генов бактериофага phiKZ на разных стадиях инфекции и определены консенсусные последовательности промоторов разных групп генов (ранние, средние и поздние). Ключевым достижением работы является получение активной многосубъединичной РНК-полимеразы фага в очищенном виде и исследование ее транскрипционных свойств *in vitro*, что, несомненно, потребовало значительных усилий и применения самых современных методов исследований. Одним из наиболее интересных результатов работы является то, что данная РНК-полимераза, хотя и гомологична бактериальным ферментам, не требует для узнавания промоторов сигма-фактора. Более того, наиболее консервативным участком промоторов является район стартовой точки транскрипции, что может указывать на то, что этот участок узнается каталитическим «кор-ферментом» РНК-полимеразы.

Работа открывает очень интересные перспективы для дальнейших исследований. Хотелось бы узнать, каким именно образом РНК-полимеразы этой группы узнают промоторные последовательности, нужна ли для этого дополнительная субъединица (белок Grp68), каковы особенности структуры активного центра этих РНК-полимераз по сравнению с клеточными ферментами, способны ли они к исправлению ошибок в ходе транскрипции (расщеплению РНК) и т.д. Наконец, будет замечательно, если в дальнейшем удастся расшифровать трехмерную структуру этой полимеразы. Для проведения этих исследований несомненно важным является создание системы для гетерологичной экспрессии РНК-полимеразы в бактериальных клетках и получение ее мутантных вариантов.

У меня есть два небольших критических замечания к работе. Во-первых, на рисунке 3, на котором приведены кривые зависимости титра бактериофагов от времени инфекции, стоило бы указать ошибки измерений, или хотя бы написать, были ли у этого эксперимента независимые повторности (так как в одной из последних точек есть некоторые различия в титре фага в зависимости от добавления рифампицина). Во-вторых, на рисунке 6Г видно, что фаговая РНК-полимераза все-таки немного активна на промоторе средних генов, а клеточная полимеразы – на позднем фаговом промоторе, так что на основе этого эксперимента нельзя утверждать, что имеется абсолютная специфичность в узнавании промоторов (как сказано на стр. 13). Сделанные замечания несколько не снижают общей ценности работы.

В целом, работа производит прекрасное впечатление по научной значимости результатов и разнообразию использованных методических подходов. Основные результаты диссертационной работы были представлены на крупных международных и российских конференциях и опубликованы в международных рецензируемых журналах. На мой взгляд, работа полностью соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК, а автор работы Якунина М.В., несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 (молекулярная биология).

Заведующий Лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института молекулярной генетики Российской академии наук,
доктор биол. наук


02.12.2016

/А.В. Кульбачинский/

Собственноручную подпись А.В. Кульбачинского заверяю.
ученый секретарь ИМГ РАН,
канд. биол. наук





/Л.Е. Андреева/