

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Плетнева Ф. И. «Новые особенности регуляции аппарата экспрессии генов в стационарной фазе бактериальной культуры *E. coli*» представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Работа Ф.И. Плетнева посвящена важным аспектам функционирования трансляционного и транскрипционного аппаратов бактериальной клетки, связанным со стратегией выживания в стрессовых условиях. В этой области остается много нерешенных проблем, и одна из них касается биологической роли уникальной пост-трансляционной модификации рибосомного белка S6 – добавления нескольких остатков глутаминовой кислоты (олигоглутаминирование) к альфа-карбоксильной группе С-концевого остатка S6 преимущественно в стационарной фазе роста. Этот процесс катализируется высоко консервативным ферментом, Rim K, но биологический смысл этой модификации совершенно не ясен.

Работа Плетнева очень интересная и развивалась нестандартно. Первоначальной целью было исследовать роль модификации белка S6 в функционировании рибосом. Классическим подходом для исследования роли белков *in vivo* является использование нокаутных штаммов – в данном случае $\Delta rimK$, в котором олигоглутаминирование S6 должно отсутствовать. Как показало полногеномное секвенирование, в штамме из Кейо-коллекции этой мутации сопутствует другая – точечная мутация в районе 1.1 гена *rpoD*, который кодирует главную σ -субъединицу транскрипционного аппарата клетки; именно эта мутация определяла фенотипические изменения в нокаутном штамме. С этого момента была поставлена еще одна цель – исследовать роль обнаруженной *rpoD*-мутации в жизнедеятельности *E. coli*. Это направление оказалось очень плодотворным (из 6 основных выводов по работе 4 относятся к найденной *rpoD*-мутации). Тщательно продуманные эксперименты *in vivo* и *in vitro* позволили выявить влияние *rpoD*-мутации на метаболическую активность клеток, показать, что мутантный штамм имеет тенденцию к продлению лаг-фазы и проявляет повышенную чувствительность к антибиотикам в лаг-фазе. Помимо этого, были обнаружены существенные изменения в транскриптоме мутанта, которые приводили к нарушению регуляции процессов, связанных с выживанием и ответом на стресс, а также изменения в чувствительности мутантной РНК-полимеразы к факторам строгого ответа, что позволило связать район 1.1 σ -фактора с регуляцией транскрипции при стрессе. Эти и другие результаты, полученные при исследовании *rpoD*-мутанта, обладают несомненной новизной и открывают новые горизонты в исследовании роли отдельных районов жизненно важного фактора $\sigma 70$ в регуляции транскрипции. Значимость этого раздела диссертации Филиппа Плетнева подтверждается публикацией в престижном высокорейтинговом журнале *Nucleic Acids Res.*

Результаты по RimK и возможной биологической роли олигоглутаминирования белка S6 выглядят скромнее. Несмотря на усилия автора и применение вполне адекватных современных методов (особенно следует отметить элегантные эксперименты с белком-таймером и проточной цитофлуориметрией), физиологическая роль модификации белка S6 при переходе в стационар так и осталась загадкой. Автор резонно предполагает, что отсутствие

характерного фенотипа штамма $\Delta rimK$, в котором нет модификации S6, может объясняться существованием дополнительных регуляторных путей, дублирующих функцию олигоглутаминирования S6 в стационарной фазе.

Реферат написан ясным научным языком, прекрасно иллюстрирован; опечатки встречаются, но их немного. Выводы сформулированы кратко и очень четко.

В целом, работа Филиппа Игоревича Плетнева является завершенным научным исследованием, которое теоретически и методически выполнено на самом высоком современном уровне. Результаты опубликованы в международных журналах с высоким рейтингом, а значит, прошли серьезный критический анализ рефери. Работа обладает несомненной научной ценностью и отражает высокий уровень квалификации автора, который несомненно заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук.

Старший научный сотрудник лаборатории Регуляторной транскриптомики
Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А.
Овчинникова РАН

К.х.н.

/Бони Ирина Венедиктовна/

личную подпись:
УДОСТОВЕРЯЮ



ИНСПЕКТОР
ОТДЕЛА КАДРОВ
КУЛИКОВАН.Г.