

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

экспертной комиссии Диссертационного совета Д.217.013.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» по диссертации Соколова Андрея Сергеевича на тему: **«Хоминг-эндонуклеаза SegD бактериофага T4: биохимическая и функциональная характеристика»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология».

Диссертация выполнена в лаборатории энзимологии генетических процессов Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г. К. Скрыбина РАН. Научный руководитель – к.б.н. Грановский Игорь Эдуардович.

Комиссия в составе д.б.н., проф. Синеокий С.П., д.б.н., проф. Азизбекян Р.Р. д.б.н. Глазунов А.В. рассмотрела данную работу и пришла к заключению.

1. Тема и содержание диссертационной работы соответствует профилю Диссертационного совета. Диссертационная работа может быть принята к защите на диссертационном совете Д.217.013.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»-ГосНИИГенетика.

2. Актуальность темы диссертации определяется важностью изучения хоминг-эндонуклеаз. Интерес к ферментам данного класса обусловлен их структурно-функциональными особенностями. Отличительной чертой хоминг-эндонуклеаз является способность узнавать протяженные (от 12 до 40 п.н.) вырожденные последовательности за счет образования большого числа специфических и неспецифических контактов с ДНК по всей длине сайта узнавания. Как следствие, практически каждая хоминг-эндонуклеаза узнает уникальную последовательность ДНК. Структурные и биохимические исследования этих ферментов не только расширяют границы наших представлений о природе ДНК-белковых взаимодействий, но и служат основой для создания эндонуклеаз с заданной специфичностью. Результаты, полученные в работе, имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Часть результатов может быть использована для практического применения. Изученная в данной работе эндонуклеаза SegD может выступить основой для создания нуклеаз с заданной специфичностью.

3. В ходе решения поставленных задач был использован широкий спектр молекулярно-биологических, биохимических и генетических методов. Все необходимые

измерения проводились в ряде повторностей с последующей статистической обработкой результатов.

4. Полученные в ходе выполнения данной диссертационной работы результаты содержат научную новизну и имеют практическую значимость, что отражено в выводах диссертации. Показано, что ген *segD* кодирует сайт-специфическую эндонуклеазу. В данной работе охарактеризована новая эндонуклеаза SegD фага T4, относящаяся к семейству GIY-YIG эндонуклеаз. Было установлено, что ген *segD* экспрессируется в ходе развития бактериофага T4. Эндонуклеаза SegD узнает сайт протяженностью 16 п.н. и гидролизует его с образованием 3'-выступающих концов длиной 3 н.о. Фермент с близкой эффективностью гидролизует как немодифицированную ДНК, так и ДНК Т-четных фагов, содержащую гликозилированные остатки гидроксиметилцитозина. В данной работе показано, что сайт эндонуклеазы SegD расположен на 3'-конце гена 23 на расстоянии 52 п.н. от сайта инсерции ОРС *segD*. У 29-ти T4-родственных бактериофагов, проанализированных в данной работе, последовательность сайта узнавания оказалась идентична. Случай с эндонуклеазой SegD является нетипичным для хоминг-эндонуклеаз, поскольку, как в геномах фагов, содержащих ген *segD*, так и родственных фагов, в которых данный ген отсутствует, имеется сайт гидролиза данной эндонуклеазы. Показано, что в условиях природного уровня эндонуклеаза SegD не способна инициировать мобильность собственной ОРС, даже в случае, если ее сайт узнавания искусственно нарушен в геноме *segD*⁺ фага. При увеличении количества фермента в клетке, эндонуклеаза SegD способна инициировать хоминг, а также генетическую рекомбинацию в сайте SegD, искусственно введенном в *rII*-локус. По-видимому, при природном уровне экспрессии гена *segD*, активности эндонуклеазы SegD недостаточно для внесения разрывов в фаговую ДНК *in vivo*.

5. Диссертационная работа соответствует пунктам 11, 13, Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24.09.2013 года. По теме диссертационной работы опубликовано три статьи в изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий (перечень ВАК) и индексируемых в базах РИНЦ, Web of Science и Scopus. Во всех публикациях кроме одной Соколов А.С. - первый автор. Материалы диссертации так же были изложены в 3 сообщениях в сборниках докладов на российских и международных конференциях.

В диссертации соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов и отдельных результатов. Автореферат и печатные работы полностью отражают основные положения диссертации. Текст диссертации, представленный в Диссертационный совет идентичен тексту, размещенному на сайте Федерального

государственного бюджетного учреждения Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт». Недостоверные сведения о работах, опубликованных соискателем ученой степени биологических наук Соколовым А.С. отсутствуют.

6. Диссертация соответствует пункту 14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 24.09.2013 года.

7. Диссертационная работа полностью соответствует пункту 9 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» №842 от 24.09.2013 года.

Члены комиссии:

д.б.н., проф. Синеокий С.П.

д.б.н., проф. Азизбеян Р.Р.

д.б.н. Глазунов А.В.