

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Путляева Егора Валерьевича «Новый вирусный вектор на основе генома потексвируса для экспрессии целевых белков в растениях», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология».

Диссертационная работа Путляева Егора Валерьевича посвящена конструированию и исследованию вирусного вектора на основе недавно выделенного штамма вируса мозаики альтернативы. Вектор позволяет накапливать разнообразные рекомбинантные белки в растениях *Nicotiana benthamiana*, в том числе белки относящиеся к наиболее востребованным в медицине группам: регуляторные белки (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор человека) и белки, используемые для создания вакцины (фрагмент гемагглютинина вируса гриппа А). Отличительной особенностью нового вектора является отсутствие транспортных белков и использование двух tandemно-расположенных, субгеномных промоторов вируса для экспрессии гена интереса. Изучение новых штаммов растительных вирусов и создание на их основе новых вирусных векторов для экспрессии целевых белков в растениях является актуальной и важной задачей современной вирусологии и биотехнологии. Важнейшим практическим результатом исследования является создание эффективного экспрессионного вектора, а главное, описание нового перспективного способа получения высокопродуктивных векторов.

В автореферате четко сформулированы поставленные цели и задачи, а выводы подкреплены изложенным экспериментальным материалом. Методы, выбранные для достижения целей исследования, полностью адекватны поставленным задачам и соответствуют требованиям современной науки. При прочтении автореферата существенных недочетов мной выявлено не было. На мой взгляд, диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК, и Путляев Егор Валерьевич заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 - вирусология.

Шварц Антон Маркович,
кандидат биологических наук (спец. вирусология),
лаборатория передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук
119991, Москва, ул. Вавилова, д. 32
Тел. (926) 680-29-82

Шварц

Подпись к.б.н. Шварца А.М. заверяю
Ученый секретарь Института молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук
к.х.н. Шаскольский Борис Леонидович



Шаскольский

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Путляева Егора Валерьевича «Новый вирусный вектор на основе генома потексвируса для экспрессии целевых белков в растениях», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология».

Диссертационная работа Путляева Егора Валерьевича посвящена конструированию и исследованию вирусного вектора на основе недавно выделенного штамма вируса мозаики альтернантеры. Вектор позволяет накапливать разнообразные рекомбинантные белки в растениях *Nicotiana benthamiana* в количествах, превышающих полученные ранее с помощью других векторов на основе геномов других фитовирусов. Отличительной особенностью нового вектора является наличие двух транскрипционно-активных промоторов вируса, синхронно контролирующих экспрессию гена интереса. Актуальность работы определяется важностью разработки эффективных вирусных векторов для дальнейшего развития растительной биотехнологии, а также важностью исследования деталей репликации растительных вирусов. Важнейшим практическим результатом исследования является создание эффективного экспрессионного вектора, а главное, описание нового перспективного способа получения высокопродуктивных векторов. Научный интерес представляют результаты диссертационной работы Путляева Е.В., связанные с получением данных о стартовых точках синтеза субгеномных РНК вируса и способом отключения одного из вирусных промоторов.

В автореферате четко сформулированы поставленные цели и задачи, а выводы подкреплены изложенным экспериментальным материалом. Методы, выбранные для достижения целей исследования, полностью адекватны поставленным задачам и соответствуют требованиям современной науки. При прочтении автореферата существенных недочетов мной выявлено не было. На мой взгляд, диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК, и Путляев Егор Валерьевич заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 - вирусология.

Альтшuler Евгений Петрович
кандидат биологических наук
младший научный сотрудник
кафедры биохимии биологического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, строение 12
E-mail: ealtschuler@gmail.com
Тел. (916) 317-19-43

05.11.2015

ПОДПИСЬ РЕКИ
ЗАВЕРЯЮ



Альтшулера Е.П.

Документовед биологического факультета МГУ

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Путляева Егора Валерьевича «Новый вирусный вектор на основе генома потексвируса для экспрессии целевых белков в растениях», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология»

Работа Е.В. Путляева посвящена важной и актуальной научной проблеме – созданию эффективных конструкций на основе вирусного генома для высокопроизводительной продукции рекомбинантных белков в растениях. Ее решение включает как изучение генома вируса и регуляции экспрессионных процессов, так и разработку протоколов, обеспечивающих высокий выход целевых белков. Таким образом, рецензируемая работа в рамках решения важной вирусологической проблемы предполагает привлечение современных молекулярно-генетических и биотехнологических подходов.

Поставленные задачи были успешно решены Е.В. Путляевым, что отражает подготовленная им диссертация и публикации по теме исследования. Предложен новый экспрессионный вектор AltMV-double на основе генома вируса мозаики альтернативы, штамма MU. При разработке вектора был применен способ усиления экспрессии гена целевого белка, который заключается в использовании двух последовательно расположенных субгеномных промоторов вируса. При изучении репликации вектора AltMV-double автором описаны первичные структуры нетранслируемых 5'-концевых участков двух субгеномных РНК ВМАльт и способ отключения транскрипционной активности одного из промоторов. Кроме того, определены границы последовательностей, содержащих функциональные субгеномные промоторы. В растениях, трансформированных AltMV-double, наблюдается высокий уровень продукции целевых белков – до 5,5 мг на 1 г растительной ткани. Не вызывают сомнения научная новизна полученных результатов и потенциал их применения в ходе последующего изучения репликации потексвирусов.

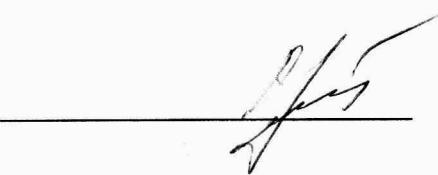
В работе применяется широкий спектр методов современной вирусологии и смежных наук, включающий методический инструментарий генетической инженерии, иммунохимические методы, базовые подходы биоинформатики, а также методы выделения рекомбинантных белков.

Автореферат написан в полном соответствии с требованиями ВАК. Автором четко сформулированы цели и задачи исследования, экспериментальная часть описана со всеми необходимыми подробностями, а полученные результаты подробно обсуждаются с учетом современного уровня научных знаний. Выводы корректны и логично следуют из экспериментальных данных. Замечания по материалу, представленному в автореферате, отсутствуют.

Таким образом, работа «Новый вирусный вектор на основе генома потексвируса для экспрессии целевых белков в растениях» полностью соответствует всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения

ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Путляев Егор Валерьевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – «Вирусология».

06 ноября 2015 г.



Дзантиев Борис Борисович,
доктор химических наук, профессор,
Федеральное государственное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»,
Институт биохимии им. А.Н. Баха,
заместитель директора по научной работе,
заведующий лабораторией иммунобиохимии.
119071 Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр.2,
тел.: (495)-954-3142,
факс: (495)-954-2804,
Эл. почта: dzantiev@inbi.ras.ru

Подпись Б.Б. Дзантиева заверяю.



06 ноября 2015 г.



Орловский Александр Федорович,
кандидат биологических наук,
ученый секретарь
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»
тел.: (495)-954-4007