

ОТЗЫВ

официального оппонента Платонова Александра Евгеньевича

на диссертацию Простовой Марии Андреевны на тему «Структурно-функциональная характеристика апикального участка домена d репликативного элемента og1L генома полиовируса», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Актуальность темы исследования

Объект исследования – вирус полиомиелита – является представителем семейства *Picornaviridae*, рода *Enterovirus*, к которому относятся, помимо самого полиовируса, и другие серьезные патогены человека. Несмотря на ликвидацию диких штаммов полиовируса на территории многих стран, в странах, где вакцинация осуществляется живой полиовирусной вакциной, циркулируют вакцинные штаммы, которые имеют потенциал к быстрой эволюции и потере аттенуирующих мутаций. Таким образом, исследование вируса полиомиелита продолжает оставаться актуальной задачей для здравоохранения. Следует при этом понимать, что диссертация не затрагивает непосредственно существенные эпидемиологические или клинические вопросы. Однако огромный массив данных, накопленных за десятилетия исследования вируса полиомиелита, делает его удобной моделью для экспериментального изучения проблем фундаментальной вирусологии, в частности механизмов репликации РНК-вирусов и пределов вариабельности генома, которую вирус может себе позволить, не теряя способность распространяться как антропонозная инфекция.

Несмотря на то, что полиовирус является одним из самых изученных вирусов, многие ключевые события цикла его репродукции остаются

нерасшифрованными, а ряд парадоксов организации его репликации остается неразгаданным. Хотя известны основные РНК-белковые комплексы, которые участвуют в репликации вирусного генома, остается неясным как происходит их формирование и какие события следуют после образования комплексов. Одним из ключевых событий инициации репликации генома полиовируса является взаимодействие вирусного белка 3CD и репликативного элемента генома полиовируса *oriL*. Известно, какой участок со стороны *oriL* узнается вирусным белком. В работе показано, что нуклеотидная последовательность этого участка может варьировать в широких пределах, что представляет собой определенный парадокс – естественно было бы ожидать, что функциональные последовательности будут, напротив, в определенной степени консервативны. Данная работа разрешает этот парадокс через демонстрацию того, что пространственная структура исследуемого участка значительно важнее для узнавания, чем его нуклеотидная последовательность. Современные исследования принципов структурной организации РНК показывают, что существует ряд универсальных структур, в частности термостабильные тетрапетели, которые могут быть реализованы большим набором последовательностей. Эти данные, вместе с результатами рассматриваемой диссертации и исследованиями других РНК-белковых комплексов, формируют понимание фундаментальных аспектов РНК-белкового узнавания в частности, и взаимодействия биомолекул в целом.

Достоверность и новизна результатов и выводов диссертационной работы

Достоверность результатов определяется комплексным подходом к проведению исследований. Работа выполнена с использованием адекватного набора методов, включающих как классические

вирусологические подходы, так и новые молекулярно-биологические технологии. Выводы логично вытекают из результатов. К основным результатам данной работы можно отнести 1) характеристику пространства «разрешенных» последовательностей апикального участка домена d репликативного элемента oriL генома вируса полиомиелита, выполненную с помощью методов обратной генетики, и 2) убедительное доказательство превалирующего значения пространственной структуры апикального участка домена d над его первичной последовательностью для эффективного узнавания вирусным белком 3CD. Для реализации последнего была разработана система экспрессии и очистки вирусного рекомбинантного белка 3CD и проведены дополнительные эксперименты для доказательства специфичности наблюдаемого комплекса в EMSA. С теоретической точки зрения результаты вносят существенный вклад в понимание того, как достигается баланс между адаптивной изменчивостью генома и необходимостью сохранения вирулентности полиовирусов.

Содержание диссертации

Диссертационная работа соискателя изложена на 114 страницах, содержит 32 рисунка и 13 таблиц. Диссертация построена по традиционному плану и состоит из разделов: оглавление, список используемых сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, и список литературы. В разделе «Обзор литературы» излагается современный уровень понимания молекулярных аспектов цикла репродукции вируса полиомиелита, а также дается характеристика пространственной структуры основных структурных классов тетрапептидов. Раздел написан профессионально, читается с большим интересом, а его содержание соответствует задаче подобных разделов диссертаций, то есть указывает на значение

проведенной работы в контексте современной изученности проблемы и обосновывает рациональность поставленных целей и задач. Раздел «Материалы и методы» содержит детальное и исчерпывающее описание культур клеток, штаммов бактерий и плазмид, использованных в работе, а также детальное описание методов. Опять же содержание соответствует задаче подобных разделов диссертаций: методы описаны настолько полно и точно, что позволяют непосредственное воспроизведение и проверку поставленных автором экспериментов. В первой главе раздела, посвященного результатам, описан эксперимент по получению жизнеспособных вирусов из набора геномов с рандомизированным апикальным участком домена d. Также описаны исследования разнообразия последовательности апикального участка домена d у природных энтеровирусов вида Enterovirus C и приведено сравнение с результатами эксперимента по отбору жизнеспособных вирусов. Во второй главе представлен анализ фенотипа у сконструированных вирусов, содержащих заданные последовательности в апикальном участке домена d. В целом создано и исследовано 27 генно-инженерных конструкций. В этом разделе уточняется пространство разрешенных последовательностей, способных поддерживать репродукцию вируса полиомиелита. В следующих главах показано, что эффективность репродукции мутантного вируса коррелирует с эффективностью репликации его генома и с эффективностью связывания соответствующего oriL с рекомбинантным 3CD. Эффективность репликации мутантных вирусных геномов определяется через скорость накопления дочерних копий генома в трансфицированной культуре эукариотических клеток. Эффективность связывания вирусным белком 3CD мутантных oriL исследуется методом EMSA в не денатурирующих условиях. Специфичность образованных комплексов автор демонстрирует несколькими методами. Раздел «Обсуждение» посвящен анализу участков домена d, вовлеченных в

узнавание вирусным белком 3CD, а также его возможной ориентации в комплексе. Также, на основе полученных данных, проводится предсказание жизнеспособности штамма полиовируса Mahoney при попадании мутации в исследованный участок.

В качестве замечаний следует отметить некоторые погрешности в оформлении рисунков и таблиц и нередкие орфографические ошибки и опечатки, что довольно странно в век автоматической проверки орфографии и грамматики. Впрочем, это не снижает общего положительного впечатления от диссертации как от научной работы.

Публикации:

По результатам исследований опубликовано три экспериментальные научные статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных WOS и SCOPUS. Работы автора вызвали интерес у специалистов и неплохо цитируются, собрав 17 ссылок по системе РИНЦ и 15 ссылок в базе SCOPUS. Также результаты работы были представлены на 5 международных конференциях. Автореферат выполнен по стандартному плану, содержит все требуемые разделы и в полной мере описывает основное содержание диссертации.

Заключение

Диссертация Простовой Марии Андреевны на тему «Структурно функциональная характеристика апикального участка домена d репликативного элемента oriL генома полиовируса» соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. N842 и предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата

наук, а сама М.П. Простова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Я, Платонов Александр Евгеньевич, даю свое согласие на обработку персональных данных и внесение информации в систему ИСТИНА".

Доктор биологических наук, профессор,
заведующий лабораторией эпидемиологии природно-очаговых инфекций
Федерального бюджетного учреждения науки
"Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии"
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека.

(111123, Москва, Новогиреевская, дом 3а)

<http://www.crie.ru/>, тел. +7(495) 672-10-69,

e-mail оппонента: platonov@pcr.ru

Платонов Александр Евгеньевич

Подпись д.б.н. Платонова Александра Евгеньевича заверяю

Подпись А.Е. Простова
Ученый секретарь Н.С. Николаева заверяю
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора



ОТЗЫВ

Официального оппонента Грановского Игоря Эдуардовича

На диссертационную работу Простовой Марии Андреевны на тему «Структурно-функциональная характеристика апикального участка домена d репликативного элемента oriL генома полиовируса», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология

Актуальность темы исследования

Полиовирус относится к роду энтеровирусов - широко распространённых возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных. Вспышки энтеровирусных инфекций возникают повсеместно, и, зачастую, отличаются массовым характером. В связи с этим исследования энтеровирусов, несомненно, актуальны для медицины и ветеринарии. Несмотря на более чем столетнюю с момента открытия историю изучения полиовируса, многое в его биологии остается не ясным. Практически полная ликвидация диких штаммов и широкое распространение аттенуированных вакцинных штаммов полиовируса, очевидно, повлияли на эволюцию этого вируса. В свете этого, диссертационная работа Простовой Марии Андреевны, направленная на понимание возможных механизмов устойчивости энтеровирусного генома к высокой частоте мутаций, возникающих в ходе его репликации, представляется важной. Кроме того, данное исследование вносит вклад в понимание молекулярных механизмов узнавания полиовирусными белками элементов структуры геномной РНК, как частный случай РНК-белкового узнавания. Полученные в работе результаты свидетельствуют о большей важности пространственной структуры исследованного репликативного участка, чем его последовательности, для связывания с вирусным белком. Таким образом, диссертационная работа Простовой М. А., посвященная структурно-функциональной характеристике домена d репликативного элемента oriL генома полиовируса, вносит вклад в фундаментальные представления об организации РНК и ее взаимодействии с другими биомолекулами.

Достоверность и новизна результатов и выводов диссертационной работы

По результатам выполненной работы корректно и обосновано сформулировано 4 вывода. В работе получены данные, подтверждающие гипотезу о предпочтении пространственной структуры тетрапетель класса UNCG в апикальном участке домена d репликативного

элемента oriL для эффективного узнавания вирусным белком 3CD, репликации и репродукции вируса. В ходе исследования были проверены 27 полногеномных конструкций, содержащих различные последовательности в апикальном участке домена d репликативного элемента oriL в геноме полиовируса, и, таким образом, достаточно полно охарактеризовано пространство разрешенных последовательностей в этом участке. Исследование эффективности репликации различных вирусных вариантов и эффективности взаимодействия рекомбинантного вирусного белка 3CD с различными oriL подтверждают полученные выводы и, таким образом, свидетельствуют об их надежности. Широкий анализ природных изолятов и сравнение с экспериментальными данными показывают, что полученный спектр последовательностей скорее отражает вариабельность всего рода Enterovirus, чем вариабельность вида Enterovirus C, к которому принадлежит полиовирус.

Содержание диссертации

Диссертационная работа соискателя изложена на 114 страницах, содержит 32 рисунка и 13 таблиц. Диссертация построена по традиционному плану и состоит из разделов: оглавление, список используемых сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение, и список литературы.

Обзор литературы состоит из 3 глав. В первой части приведены общие сведения о цикле репродукции вируса полиомиелита, в частности о механизме проникновения вируса в клетку, трансляции вирусной РНК и сопряжении процессов трансляции и репликации вируса. Достаточно подробно изложены современные представления о репликации полиовирусного генома. В следующей части работы автором приведены сведения о структуре и функции белка 3CD, участвующем в узнавании oriL и репликации вирусной РНК. Кроме того, в этой части работы приводится описание структуры oriL и роли отдельных элементов структуры во взаимодействии с клеточными и вирусными белками. Заключительная часть литературного обзора посвящена описанию пространственной организации основных структурных классов тетрапепетель, встречающихся в молекулах РНК. В целом, обзор литературы достаточно полно отражает состояние исследований в рамках темы диссертационной работы и подчеркивает её актуальность.

Экспериментальная часть работы хорошо спланирована. Работа выполнена на современном уровне, с использованием широкого спектра методов биоинформатики, геной инженерии, клеточной биологии, вирусологии и иммунологии. В разделе

«Материалы и методы» достаточно подробно описаны как стандартные, так и модифицированные методики, использованные при проведении исследований. Особо стоит отметить, что Простова Мария Андреевна уделила большое внимание обоснованию выбора методик для решения экспериментальных задач, а также описанию методических сложностей, возникших в ходе некоторых экспериментов. Можно заключить, что методы и подходы, использованные автором, действительно адекватны поставленным в диссертационной работе задачам.

В разделе «Результаты» представлены экспериментальные данные, позволившие автору решить поставленные в работе задачи. Данный раздел состоит из 4 глав. Первая глава посвящена селекции жизнеспособных вирусов из набора геномов с рандомизированным апикальным участком домена d: приведены результаты экспериментов по конструированию и оценке качества библиотеки полногеномных клонов полиовируса, содержащих произвольную октануклеотидную последовательность в апикальном участке d-петли; селекции клонов, способных производить жизнеспособные вирусы в культуре перевиваемых клеток млекопитающих, а также анализу первичных нуклеотидных последовательностей отобранных вариантов. Всего автором был проведен анализ 62 вариантов жизнеспособных вирусов и установлено, что многочисленные группы последовательностей преимущественно содержат тетрапетли с пространственной структурой класса UNCG. На основании данных первичного анализа в последующих экспериментах, представленных во второй главе раздела, Простовой М.А. было проведено конструирование вирусов, содержащих заданные последовательности в апикальном участке домена d, и их характеристика. В результате было подтверждено, что варианты, содержащие пространственную структуру класса UNCG в этом участке, могут поддерживать эффективную репродукцию вируса полиомиелита, тогда как наличие в апикальном участке d-петли последовательностей, формирующих структуры классов GNRA или gCUUGc, негативно сказывалось на жизнеспособности вируса. Кроме того, как было далее показано Простовой М.А., нарушение структуры апикального участка d-петли может компенсироваться заменами аминокислот в последовательности белка 3C, участвующего в узнавании этой структуры, что согласуется с имеющимися литературными данными. В последующей главе проведена количественная оценка синтеза геномной РНК и продемонстрировано, что фенотипические характеристики исследованных вариантов коррелируют с эффективностью репликации вируса. Заключительная часть раздела «Результаты» посвящена исследованию влияния пространственной структуры апикального участка домена d oriL на способность образовывать комплекс с белком 3CD *in vitro*. С этой целью Марией Андреевной был сконструирован продуцент и получен очищенный препарат

белка 3CD, а также получены мышинные антитела, специфичные к этому белку. В этой части работы автором была установлена корреляция между способностью белка 3CD формировать комплекс с апикальным участком домена d и эффективностью репликации вируса. Это позволило Простовой М.А. высказать обоснованное предположение, что фенотип исследованных вариантов вируса полиомиелита, а также эффективность его репликации обусловлены именно эффективностью взаимодействия белка 3CD с oriL.

В разделе «Обсуждение» автор прогнозирует жизнеспособность полиовируса штамма Mahoney при попадании мутации в исследуемый участок репликативного элемента oriL и показывает, что ни одна мутация в этом участке не будет летальной для вируса. Также автор рассматривает потенциальные сайты домена d, которые могли бы быть вовлечены в связывание с вирусным белком 3CD, и его возможную ориентацию в комплексе.

В целом, результаты проделанной работы тщательно проанализированы. Выводы, сделанные автором, соответствуют поставленным задачам и согласуются с полученными результатами.

В качестве вопросов и замечаний следует отметить:

1. Часть работы посвящена конструированию продуцента белка 3CD и отработке схемы его выделения, и этот результат отражен в выводах. Очевидно, что Простова М.А., следуя опубликованным методикам, столкнулась с определенными трудностями и нашла оригинальные решения, позволившие ей получить очищенный препарат белка 3CD и затем провести соответствующие исследования. Тем не менее в главе раздела «Обзор литературы», посвященной описанию структуры и функции белка 3CD, практически не отражены имеющиеся в литературе данные по его продукции в *E. coli* и очистке. В результате этого упущения, оригинальность полученных результатов осталась не подчеркнута.

2. Раздел «Результаты», глава 3.1.2: количество инфекционных вариантов в пулах полиовирусных геномных РНК, содержащих рандомизированную последовательность участка домена d oriL, соотносится при расчетах с удельной инфекционностью транскрипта, соответствующего геному дикого типа. Тем не менее, численное значение этой величины нигде не приводится.

3. Следовало бы уделить больше внимания обсуждению некоторых результатов, а именно:

- чем вызвано наличие достаточно большого количества нежелательных мутаций, расположенных вне d-домена oriL, при конструировании библиотеки полногеномных клонов (раздел 3.1.1.)?

- чем обусловлено более чем стократное увеличение удельной инфекционности пула полногеномных РНК с рандомизированным участком домена d oriL при всего лишь трехкратном увеличении, со 100 до 300, количества индивидуальных вариантов в пуле (таблица 5)?

4. При описании получения генно-инженерных конструкций, как правило, не указаны размеры клонируемых фрагментов, как и не приведен точный размер транскрипта полиовируса, использованного в экспериментах по связыванию с белком 3CD *in vitro*.

Также можно отметить наличие незначительного количества опечаток и неточностей. Особо отмечаю, что сделанные замечания можно отнести к недочетам и упущениям. Они не являются принципиальными по отношению к результатам исследования и не умаляют общего хорошего впечатления от диссертационной работы.

Публикации:

Результаты диссертационной работы Простовой М.А. опубликованы в 3 экспериментальных статьях в рецензируемых изданиях, индексируемых в базах данных WOS и Scopus. Данные публикации отражают содержание диссертации. Данные диссертационной работы также были представлены на пяти международных научных конференциях.

Автореферат

Автореферат выполнен по стандартному плану, содержит все требуемые разделы и в полной мере отражает основное содержание диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Простовой Марии Андреевны на тему «Структурно функциональная характеристика апикального участка домена d репликативного элемента oriL генома полиовируса» представляет собой законченное научное исследование,

выполненное на высоком методическом уровне. По актуальности, поставленным целям и задачам, объёму проведённых исследований, новизне полученных результатов, их научной настоящая диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. N 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сама Мария Андреевна Простова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Кандидат биологических наук,
заведующий лабораторией
энзимологии генетических процессов
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина
Российской академии наук»

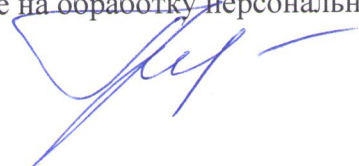


И. Э. Грановский

22.11.2017 г.

142290, Московская обл., г Пушкино,
пр. Науки, д. 5
тел. 8 (4967) 319588
эл. почта: granovsky@ibpm.pushchino.ru

Я, Грановский Игорь Эдуардович, даю свое согласие на обработку персональных данных и внесение информации в систему «ИСТИНА».



Подпись Грановского И.Э. удостоверяю
Зас. канцелярией
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук

ОТЗЫВ Официального оппонента

На диссертацию Простовой Марии Андреевны на тему «Структурно-функциональная характеристика апикального участка домена d репликативного элемента oriL генома полиовируса», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Диссертационная работа посвящена исследованию особенностей взаимодействия репликативного элемента oriL генома полиовируса с вирусным белком 3CD. Полиовирус, как представитель рода *Enterovirus* семейства *Picornaviridae*, в которое входят различные патогенные для человека и животных вирусы, представляет научно-практический интерес. Несмотря на то, что полиовирус является одним из самых изученных представителей семейства, многие вопросы молекулярной биологии вируса остаются не выясненными и требуют дополнительных исследований. Одним из интересных и недостаточно изученных аспектов являются молекулярные механизмы взаимодействия с репликативными элементами генома вирусных и клеточных белков, комплексы которых отвечают за ключевые события инициации разных этапов репликации. Интерес представляет также то, каким образом функциональность этих жизненно-важных комплексов поддерживается в условиях высокой скорости появления мутаций в геноме полиовируса.

Целью работы стало выявление свойств апикальной тетрапепти и ее фланкирующих пар в домене d репликативного элемента oriL, необходимых для эффективного формирования комплекса с вирусным белком 3CD. Для достижения этой цели в работе задействованы разнообразные подходы: классические вирусологические методы, создание генно-инженерных конструкций и обратная генетика, получение рекомбинантных белков и гипериммунных сывороток для визуализации РНК-белковых комплексов.

Диссертационная работа соискателя изложена на 114 страницах, содержит 32 рисунка и 13 таблиц, построена по традиционному плану и содержит все необходимые разделы. В разделе «Обзор литературы» достаточно подробно изложены современные данные о цикле репродукции вируса полиомиелита, свойствах и структуре репликативных элементов его генома. Отдельно рассмотрены вирусный белок 3CD и его взаимодействие с элементом *oriL*. Также обзор литературы содержит необходимый в данной работе раздел о структурной организации РНК, в частности о тетрапетлях. Раздел «Материалы и методы» содержит исчерпывающее описание всех методов, использованных в данной работе.

В разделе «Результаты» достаточно подробно изложены все эксперименты. Постановка экспериментов, необходимых для решения поставленных задач, логически обоснована. В диссертации представлены убедительные экспериментальные данные, демонстрирующие, что вирусный белок 3CD не обладает способностью специфически узнавать последовательность исследуемого участка репликативного элемента, но имеет предпочтение к определенной пространственной структуре этого участка, соответствующей структуре одного из трех классов экстремально стабильных тетрапетель. Причем, чтобы достоверно это продемонстрировать было создано более 20 генно-инженерных конструкций. В работе также проведено исследование роли прилегающих к апикальной тетрапетле пар и показано, что их последовательность также не узнается специфически и имеет значение, по-видимому, только для формирования правильной пространственной структуры. Создание и исследование специальной генно-инженерной конструкции, содержащей пентапетлю в апикальном участке домена d, четыре нуклеотида которой формируют нужную пространственную структуру, а пятый выпетлен в большой желобок, позволяют делать предсказания об ориентации домена d в комплексе. Со стороны белка 3CD было продемонстрирована способность известных аминокислотных замен Thr154Ile и Lys156Arg к компенсации неблагоприятных

пространственных структур в апикальном участке домена d. Что, в свою очередь, позволяет делать предположения о характере взаимодействия этих аминокислот с исследуемым участком oriL. Важно, что результаты работы с полноразмерными вирусными геномами *in vivo* подкреплены данными *in vitro* по взаимодействию белка 3CD с изолированными шпилечными РНК фрагментами, несущими мутации, которые были выявлены в экспериментах с инфекционными геномами.

В разделе «Обсуждение» автор рассматривает, как полученные результаты помогают лучше понять аспекты взаимодействия исследуемого участка с вирусным белком и как предпочтение определенной структуры позволяет этому ключевому для инициации репликации генома элементу быть в высокой степени устойчивым к практически любым мутациям.

В качестве замечаний следует отметить лишь недостатки в тексте диссертации. Несмотря на малое количество опечаток, автор оставил в тексте нескорректированные фрагменты черновика рукописи. Так на стр. 19 неожиданно читаем “Здесь описание известных РНК-белковых комплексов и их возможных ролей в ходе репликации. Обсуждение того, что нет окончательного понимания, где уридилируется VPg для того, чтобы стать затравкой для минус цепи будет позже.” На стр. 80 после указания, что данные не показаны, отмечается в скобках “изображение утеряно”. К формальной ошибке можно отнести повторяющееся на стр. 70-73 словосочетание “вид Enterovirus C”. В данном случае с таксономической точки зрения правильно говорить тип или группа Enterovirus C. Весьма странно звучит вывод 4 диссертации. Здесь говорится о создании эффективной системы экспрессии белка 3CD. Очевидно, что это лишь промежуточное техническое достижение, необходимое для проведения последующих экспериментов *in vitro*. Логично было бы здесь дать вывод о том, что эксперименты *in vitro* полностью подтверждают результаты *in vivo* с мутированными вирусными РНК-геномами.

Результаты работы Простовой М.А. вошли в три публикации в журналах, индексируемых в международных базах данных WOS и SCOPUS. Результаты работы доложены на 5 международных конференциях. Автореферат выполнен по стандартному плану, содержит все требуемые разделы и в полной мере описывает основное содержание диссертации. Все указанные замечания носят технический характер и не влияют на общее положительное впечатление о представленной работе.

В заключение следует сказать, что диссертационная работа Простовой Марии Андреевны на тему «Структурно функциональная характеристика апикального участка домена d репликативного элемента *oriL* генома полиовируса» выполнена на достойном методическом уровне и представляет собой логичное и законченное исследование. Работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. N842 и предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сама М.П. Простова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.02 – вирусология.

Доктор биологических наук, профессор,
заведующий лабораторией геномной инженерии вирусов,
НИИ физико-химической биологии
имени А.Н.Белозерского,
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова»,
(119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40)
www.belozersky.msu.ru, тел. +7 (495) 939-53-59,
e-mail оппонента: morozov@genebee.msu.su

23 ноября 2016 г.



Морозов Сергей Юрьевич

