

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

**Бурениной Ольги Юрьевны**

**«Малые некодирующие 6S-1 и 6S-2 РНК из *Bacillus subtilis*:  
сравнительный анализ свойств и функций»**,

представленной на соискание учёной степени кандидата химических наук  
по специальности 02.00.10 – «биоорганическая химия».

Диссертационная работа Бурениной О.Ю. посвящена изучению функциональных свойств малых РНК, регулирующих работу бактериальной РНК-полимеразы. Эти РНК были открыты относительно недавно, и их изучение проводилось в основном на клетках *E. coli*. Геном этой грамотрицательной бактерии кодирует единственную такую РНК – 6S РНК, которая начинает экспрессироваться при переходе культуры в стационарную фазу и нужна для ингибирования транскрипции генов «домашнего хозяйства». Диссертанта же заинтересовал тот факт, что у грамположительной бактерии *B. subtilis* таких РНК две (6S-1 и 6S-2), и при этом одна из них (6S-2) экспрессируется в экспоненциальной фазе роста. Целью диссертационной работы стало сравнение свойств этих двух РНК в системах *in vitro* и *in vivo*.

В ходе работы Бурениной О.Ю. удалось показать способность обеих РНК ингибировать транскрипцию с бактериальных промоторов в прямом тесте *in vitro* с использованием очищенного холофермента РНК-полимеразы *B. subtilis*, а также определить константы связывания РНК с полимеразой. Был продемонстрирован синтез коротких фрагментов РНК (пРНК) на 6S-1 и 6S-2 РНК, изучена их структура и способность дестабилизировать комплекс 6S РНК с полимеразой. Наличие пРНК было продемонстрировано также *in vivo*. Наконец, с помощью 2D-DIGE электрофореза Буренина О.Ю. проанализировала на уровне белка дифференциальную экспрессию генов в штаммах *B. subtilis*, содержащих делеции генов 6S-1 и 6S-2 РНК.

Результаты, полученные Бурениной О.Ю., являются новыми и вносят принципиальный вклад в изучение функций коротких РНК в бактериях, что подтверждается их публикацией в таких высокорейтинговых международных журналах, как *RNA* и *RNA Biology*. Работа выполнена на высоком методическом уровне. Автореферат содержит все необходимые сведения для её понимания.

Ни к сути работы, ни к её изложению замечаний практически не имеется. Из мелких недочётов можно отметить следующие.

- 1) В описании эксперимента на рис. 2 не приведена концентрация ДНК-матрицы (она может быть важна, т.к. речь идёт о конкуренции между ДНК и возрастающим количеством РНК).
- 2) На стр. 3 приводится весьма спорное утверждение, что эукариотические РНК Alu и B2 являются аналогами 6S РНК прокариот.

В качестве пожеланий на будущее можно было бы предложить Бурениной О.Ю. не ограничиваться перечислением списка дифференциально экспрессирующихся генов, а попытаться найти какие-то общие черты в структуре их промоторов, чтобы приблизиться к пониманию механизма функционирования 6S РНК *in vivo*. Кроме того, данные о количестве пРНК в разных фазах роста культуры (рис. 8А) позволяют предположить, что крайне интересной точкой для анализа могла бы быть стадия выхода из стационарной фазы роста, когда в клетке происходит интенсивных синтез пРНК.

Наконец, крайне интересным представляется обнаруженный диссертантом факт, что пРНК в живых клетках имеют большую длину, чем те, которые удалось получить *in vitro* с использованием очищенного холофермента РНКП. По мнению Бурениной О.Ю. именно такие РНК и являются по-настоящему активными. Мне кажется, что этот факт мог бы стать хорошей предпосылкой для дальнейшего развития исследований в данной области. Так, можно было бы попробовать воспроизвести синтез удлинённых продуктов в полном клеточном лизате *B. subtilis* и, в случае успеха, попытаться найти недостающий «фактор процессивности», которого не хватает очищенному холоферменту, путём фракционирования этого экстракта.

Все эти пожелания, разумеется, абсолютно не влияют на высокую оценку качества и объема выполненной работы, а лишь подчёркивают высокий уровень исследования, проведённого диссертантом.

Принимая во внимание всё вышесказанное, можно с уверенностью заключить, что диссертационная работа «Малые некодирующие 6S-1 и 6S-2 РНК из *Bacillus subtilis*: сравнительный анализ свойств и функций» является законченным научным исследованием, имеющим большую значимость для молекулярной биологии и биоорганической химии. Она удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата химических наук, а ее автор, Буренина Ольга Юрьевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «биоорганическая химия».



Старший научный сотрудник  
НИИ Физико-химической биологии  
имени А.Н. Белозерского  
МГУ имени М.В. Ломоносова

к.б.н. Дмитриев С.Е.



02.06.2013.

19992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40  
Тел.: +7(495)939-53-59, e-mail: dm1@ru.ru