

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Оскорбина Игоря Петровича «Клонирование и характеристика химерных ДНК-полимераз на основе большого фрагмента ДНК-полимеразы I *Geobacillus* sp. 777 и ДНК-связывающего домена ДНК-лигазы *Pyrococcus abyssi*, ДНК-связывающего белка *Sulfolobus tokodaii*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Работа Оскорбина Игоря Петровича посвящена проблеме поиска способов улучшения свойств цепь-вытесняющих ДНК полимераз для более эффективного их применения в биотехнологии и диагностике.

Актуальность темы диссертации не вызывает сомнений. В настоящее время ДНК-диагностика многих заболеваний человека стала «золотым стандартом». Активно развивается разработка бесприборных тестов, в которых изотермическая амплификация нуклеиновых кислот занимает достойное место. Для проведения изотермической амплификации используются ДНК-полимеразы с цепь-вытесняющей активностью. Одним из основных препятствий при создании диагностических тестов для бесприборной диагностики является присутствие в анализируемых образцах ингибиторов амплификации нуклеиновых кислот. Таким образом, остро стоит проблема обеспечения устойчивости ДНК-полимераз к действию ингибиторов.

В своей работе автор предлагает новые подходы для уменьшения чувствительности бациллярных ДНК-полимераз к ингибиторам. Предложенным Оскорбиным И.П. подход основан на присоединение к ДНК-полимеразе I дополнительных ДНК-связывающих белков. Ранее эта методика была успешно применена для увеличения процессивности термостабильных ДНК-полимераз.

Автором экспериментально показано, что присоединение ДНК-связывающего белка Sto7d к большому фрагменту ДНК-полимеразы I увеличивает процессивность химерного фермента и его устойчивость к ингибиторам. Созданный химерный фермент Gss-Sto способен проводить полногеномную амплификацию с большей эффективностью по сравнению с исходным ферментом. Повышенная устойчивость Gss-Sto к ингибиторам является важным шагом для создания бесприборных диагностических тестов.

Интересным результатом, полученным автором в представляемой работе, является флуоресцентные красители, подобранные для LAMP в реальном времени. Автором установлено, что флуоресцентные красители SYTO-82 и SYTO-9 ингибируют LAMP в меньшей степени, чем SYBR Green I и обеспечивают большее отношение сигнала к шуму. Использование SYTO-82 и SYTO-9 позволит облегчить процесс оптимизации работы тест-систем на основе LAMP.

Личный вклад соискателя заключается в проведении всех экспериментальных работ по очистке и характеристике рекомбинантных белков, а также в обработке и анализе полученных при исследовании данных. Все положения диссертационной работы опубликованы в импактовых международных журналах.

В качестве замечаний следует отметить то, что в автореферате встречаются опечатки, что не снижает общей ценности диссертационной работы.

Представленная диссертационная работа является полноценным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. Автореферат полностью отражает задачи и результаты диссертационной работы.

Исходя из представленных в автореферате сведений, диссертация полностью соответствует требованиям ВАК п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335 и от 02 августа 2016 года №748), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Оскорбин Игорь Петрович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Рук. группы генно-инженерных биофарм. технологий  
лаб. биотехнологии ИБХ РАН.  
с.н.с. к.х.н.



Есипов Р.С.

ПОДАТЬ ЗАВЕРЯЮ  
УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ ЦЕНТР  
ИБХ РАН  
г. Москва, ул. Вавилова, 28

