

УТВЕРЖДАЮ:

Директор

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

Института общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской Академии наук

член-корреспондент РАН,

д.б.н.  Кудрявцев А.М.

«03»  2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской академии наук

Диссертационная работа Акимовой Наталья Игоревны «Стресс-адаптивные характеристики систем токсин-антитоксин II типа *VarBC46 Mycobacterium tuberculosis* и *VarBC2 Mycolicibacterium smegmatis*» выполнена в лаборатории генетики микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

В период подготовки диссертации соискатель Акимова Наталья Игоревна обучалась в очной аспирантуре в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук с 2018 по 2023 год. С ноября 2017 года по настоящее время работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук в лаборатории генетики микроорганизмов в должности младшего научного сотрудника.

В 2018 г. Акимова Наталья Игоревна окончила Московский

государственный университет имени М.В. Ломоносова по направлению 06.04.01 «Биология», наименование программы - генетика.

Акимова Н.И. сдала кандидатские экзамены в 2019 г. («История и философия науки»), в 2019 г. («Иностранный язык (английский)») и в 2020 г. («Генетика»), а также в 2022 г. итоговый государственный экзамен по совокупности учебных дисциплин.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор, Даниленко Валерий Николаевич, заведующий лабораторией генетики микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук.

По итогам рассмотрения диссертации «Стресс-адаптивные характеристики систем токсин-антитоксин II типа *VapBC46 Mycobacterium tuberculosis* и *VapBC2 Mycolicibacterium smegmatis*» принято следующее заключение:

Актуальность исследования

Системы токсин-антитоксин (ТА) могут играть важную роль в адаптации к стрессовым воздействиям различной природы за счёт индукции перехода бактериальных клеток в дормантное состояние. В геномах различных видов бактерий зафиксировано различное число генов систем ТА. Значительное количество модулей ТА зафиксировано в геноме *M. tuberculosis*. Вероятно, за счёт взаимодействий, возникающих между многочисленными системами ТА *M. tuberculosis*, достигается более высокая адаптации патогена к стрессовым факторам, воздействующих на него во время инфицирования макрофагов организма-хозяина. Предполагается, что ключевую роль в регуляции адаптации к стрессовым воздействиям различной природы играет система ТА *VapBC46 M. tuberculosis*. Особый интерес представляет изучение влияния мутации в гене токсина *vapC46 C113G*, обнаруженной в ряде изолятов высоковирулентной сублинии *M. tuberculosis* Beijing-BO-148, на функцию токсина *VapC46*. Не меньший интерес для изучения представляет

система TA VarBC2 *M. smegmatis*. На основании данных, полученных в более ранних работах (Bajai et al., 2016), предполагается, что токсин VarC2 может участвовать в активации DnaK – главного шаперонного белка микобактерий, участвующего в регуляции фолдинга клеточных белков в условиях стресса. Также существует предположение относительно участия антитоксина VarB2 в активации экспрессии генов оперона *dosR*, играющего ключевую роль в регуляции перехода бактериальных клеток в дормантное состояние при стрессовых воздействиях среды. В настоящее время в литературе отсутствуют экспериментальные данные относительно участия данных систем TA в регуляции выживаемости бактериальных клеток в условиях воздействия антибиотиков, окислительного стресса и стресса, связанного с лимитированием нутриентов. Полученные данные позволят прояснить роль систем TA VarBC46 *M. tuberculosis* и VarBC2 *M. smegmatis* в адаптации бактериальных клеток к стрессовым воздействиям, а также в регуляции их перехода в дормантное состояние.

Научная новизна и практическая значимость исследования

В работе изучено влияние систем TA VarBC46 и VarBC2 на выживаемость модельного объекта *M. smegmatis* в условиях воздействия окислительного стресса и стресса, связанного с лимитированием источников азота и углерода. Было показано участие данных систем в регуляции устойчивости к эритромицину. Также впервые было изучено влияние мутации в гене *varC46* C113G на РНКазную активность кодируемого им токсина. Также было экспериментально показано участие модуля *varBC2* в регуляции экспрессии одного из генов оперона *dosR*. Кроме того, впервые проведена экспериментальная оценка РНКазной и шаперонной активности токсина VarC2 *M. smegmatis*.

Системы токсин-антитоксин рассматриваются в качестве одной из наиболее перспективных биомишеней клетки, что приобретает особую значимость при борьбе с патогенными бактериями. Полученные данные

могут стать основой для дальнейших исследований способов активации систем ТА, результатом которой является накопление высоких концентраций токсина и, как следствие, гибель клетки.

Достоверность результатов проведенного исследования

Полученные данные согласуются с известными данными литературы. Диссертационная работа является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне с использованием биоинформатических методов и множества современных молекулярно-генетических методов.

Промежуточные результаты диссертационной работы были представлены на научно-практической конференции с международным участием «Исследования и инновации в современной фтизиатрии», Новосибирск 16-17 сентября 2021, где был сделан доклад на тему: «Роль модуля токсин-антитоксин *varBC2 M. smegmatis* в регуляции лекарственной устойчивости и ответа на окислительный стресс».

Результаты по теме диссертационной работы также были представлены на лабораторных семинарах и ежегодных отчетах аспирантов ИОГен РАН в 2018-2022 гг.

Соответствие диссертационной работы избранной специальности

Диссертационная работа соискателя Акимовой Н.И. соответствует избранной специальности 1.5.7 – генетика.

Личный вклад соискателя

Автор принимал личное участие на всех этапах выполнения работы: в планировании и проведении экспериментов, оценке и интерпретации результатов, в отборе литературных источников и написании обзора литературы. Автором лично были выполнены следующие типы работ: биоинформатический анализ, клонирование генов, кодирующих токсины *VarC46*, *VarC2*, антитоксин *VarB2*, получение штаммов *M. smegmatis*, несущих делеции компонентов модуля ТА *varBC2 M. smegmatis*, оценка скорости роста полученных штаммов, определение минимальных

ингибирующих концентраций антибиотиков, оценка выживаемости полученных штаммов в условиях воздействия стрессовых факторов среды, анализ транскрипционной активности генов, а также статистическая обработка полученных результатов.

Выделение РНК для проведения анализа транскрипции генов, наработка и выделение белков *VarC46* и *VarC2*, определение их рибонуклеазной активности, а также определение шаперонной активности *VarC2* проводилось совместно с с.н.с. к.б.н. Беккер О. Б.

Автор лично проводил анализ полученных результатов и оформлял результаты для представления в виде доклада на научной конференции, а также принимал участие в написании статей по результатам работы.

Ценность научных работ соискателя и полнота изложения материалов диссертации в них

В целом полученные Акимовой Н. И. результаты обладают высоким уровнем научной значимости. Системы токсин-антитоксин могут играть важную роль в адаптации бактериальных клеток к стрессовым воздействиям различной природы. За счёт активации компонентов систем ТА может достигаться переход бактериальных клеток в дормантное состояние, в котором она становится невосприимчивой к воздействию данного стрессового фактора.

Роль систем ТА *VarBC46 M. tuberculosis* и *VarBC2 M. smegmatis* в регуляции устойчивости к антибиотикам и адаптации к окислительному стрессу и стрессу, связанному с лимитированием источников азота и углерода ранее не была изучена экспериментально. Знание точных механизмов функционирования данных систем ТА и их взаимодействий с другими белками бактериальной клетки имеет большое значение при разработке новых, высокоэффективных антимикробных агентов, направленных на искусственную активацию токсинов бактериальной клетки, что, в конечном итоге, должно привести к её гибели.

Часть работы, посвящённая исследованию системы ТА *VarBC2 M.*

smegmatis была выполнена в рамках проекта РФФИ «Аспиранты» №20-34-90124 от 20.08.2020 «Исследование функции системы токсин-антитоксин *VapBC2 Mycolicibacterium smegmatis*: РНКазная и шаперонная активность, участие в устойчивости к антибиотикам».

По материалам диссертационной работы опубликовано 2 статьи в рецензируемых журналах.

Диссертация Акимовой Н.И. «Стресс-адаптивные характеристики систем токсин-антитоксин II типа *VapBC46 Mycobacterium tuberculosis* и *VapBC2 Mycolicibacterium smegmatis*» является научно-квалификационной работой. Работа Акимовой Н.И. соответствует критериям, предъявляемым к диссертационным работам, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, и рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - генетика.

Заключение принято на межлабораторном семинаре Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Присутствовало на заседании 17 человек, в том числе докторов биологических наук – 6 чел, кандидатов биологических наук – 9 чел. Результаты голосования: «за» – 17 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 22/6 от 22 июня 2023 г.

Руководитель семинара,
д.б.н.
заведующий лабораторией
экологической генетики
Рубанович А.В.

22.06.2023 г.

Подпись
удостоверяю

УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
Д. Б. Н
ГОРЯЧЕВА И.И.

