

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Акимовой Натальи Игоревны на тему: «Стресс-адаптивные характеристики систем токсин-антитоксин II типа VarBC46 *Mycobacterium tuberculosis* и VarBC2 *Mycobacterium smegmatis*» по специальности 1.5.7 - генетика (биологические науки)**

Диссертационная работа Акимовой Натальи Игоревны посвящена исследованию систем токсин-антитоксин II типа возбудителя туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* и его модельном объекте *Mycobacterium smegmatis*. В геноме *M. tuberculosis* обнаружено значительное число модулей токсин-антитоксин (ТА), которые взаимодействуют друг с другом, образуя единую сеть. Ключевые компоненты таких модулей могут рассматриваться в качестве перспективных биомишеней.

В рамках диссертационной работы рассмотрены следующие вопросы:

- участие компонентов систем ТА VarBC46 *M. tuberculosis* и VarBC2 *M. smegmatis* на лекарственную устойчивость и выживаемость клеток в условиях воздействия стрессовых факторов различного происхождения;

- участие компонентов системы токсин-антитоксин VarBC2 *M. smegmatis* в регуляции экспрессии генов, индуцирующих переход бактерии в состояние покоя, участие в регуляции метаболизма глицерина;

- проанализировано влияние мутации C<sub>113</sub>G на функцию белка VarC46;

- исследованы РНКазная и шаперонная активность белка VarC2.

С помощью введения гена *varC46* *M. tuberculosis* в геном *M. smegmatis* автором диссертационной работы показано, что токсин VarC46 участвует в ответе бактериальных клеток на кратковременное воздействие 0,5 mM перекиси водорода и не участвует в ответе клеток на стресс, связанный с лимитированием источников азота и углерода. С помощью полученных делеций генов *varB2*, *varC2* и *varBC2* в геноме *M. smegmatis* показано отсутствие различий в выживаемости между штаммом *M. smegmatis* дикого типа и делеционными мутантами в условиях воздействия окислительного стресса. На основании полученных данных автор диссертационной работы предполагает, что система VarBC2 *M. smegmatis* не является ключевым регулятором стресс-ответа бактериальных клеток. При этом в работе показано, что в отсутствие стрессовых воздействий в регуляции роста *M. smegmatis* участвуют оба модуля ТА.

В работе впервые исследовано влияние систем ТА VarBC46 *M. tuberculosis* и VarBC2 *M. smegmatis* на лекарственную устойчивость. Было обнаружено, что VarC46 может участвовать в регуляции устойчивости к эритромицину и офлоксацину. Для VarBC2 *M. smegmatis*, что вставка дополнительной копии гена токсина *varC2* приводит к повышению чувствительности к эритромицину, что может иметь практическую значимость.

Автором диссертационной работы было показано, что оба токсина (VarC46 и VarC2) обладают рибонуклеазной активностью в отношении мРНК. Для токсина VarC2 такое исследование проведено впервые. Введение мутации C<sub>113</sub>G в структуру VarC46 приводит лишь к слабо выраженным изменениям в уровне РНКазной активности. Также автором диссертационной работы показано *in vitro*, что токсин VarC2 не является кошапероном белка DnaK *M. tuberculosis* в приведенных условиях эксперимента.

Диссертационная работа Акимовой Натальи Игоревны построена по традиционному плану, изложена на 158 страницах, содержит 56 рисунков и 18 таблиц. Список литературы

включает 213 источника. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Диссертационная работа Акимовой Натальи Игоревны написана понятным научным языком и хорошо иллюстрирована. Все поставленные задачи исследования выполнены. Выводы, сделанные в работе, соответствуют цели и задачам исследования. Положения, выносимые на защиту, подтверждены результатами диссертационного исследования и не вызывают сомнений. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

**Однако к работе имеется ряд вопросов и замечаний:**

- 1) незначительное количество опечаток;
- 2) для лучшего восприятия данных следовало привести рисунки, посвящённые исследованию влияния модуля varBC46 на чувствительность клеток *M. smegmatis* к антибиотикам, к такому же виду, как и для модуля varBC2;
- 3) в диссертационной работе не отражен источник получения белка DnaK;
- 4) при постановке рефолдинга модельных белков с помощью шаперона DnaK не поставлен положительный контроль, в связи с чем возникает вопрос о шаперонной активности используемого белка.

**Заключение**

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования Натальи Игоревны на тему: «Стресс-адаптивные характеристики систем токсин-антитоксин II типа VarBC46 *Mycobacterium tuberculosis* и VarBC2 *Mycobacterium smegmatis*». Содержание диссертации полностью соответствует п.п. 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлениями Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, ред. от 01.10.2018 г. №1168, ред. от 20.03.2021 г. №426) по специальности 1.5.7 - генетика, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Акимова Наталья Игоревна, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - генетика.

Мелькина Ольга Евгеньевна,  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник Лаборатории Генетики бактерий  
ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»  
Адрес института: 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1.  
тел.: 8-495-315-01-47  
e-mail: [compleanno@mail.ru](mailto:compleanno@mail.ru)

МОУ  
23.01.2024

Подпись О.Е. Мелькиной заверяю:

Главный ученый секретарь

НИЦ «Курчатовский институт»

Борисов Кирилл Евгеньевич



/Борисов К.Е./

