

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Акимовой Натальи Игоревны «Стресс-адаптивные характеристики систем токсин-антитоксин II типа *VapBC46 Mycobacterium tuberculosis* и *VapBC2 Mycolicibacterium smegmatis*», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика

### Актуальность исследования

Диссертационная работа Акимовой Н. И. посвящена исследованию стресс-адаптивных характеристик систем токсин-антитоксин *VapBC46 M. tuberculosis* и *VapBC2 M. smegmatis*. Системы токсин-антитоксин могут играть важную роль в адаптации бактериальных клеток, повышая их выживаемость в условиях воздействия стрессовых факторов различной природы. Геном возбудителя туберкулёза *M. tuberculosis* содержит число генов систем токсин-антитоксин (93). Такая многочисленность может быть обусловлена патогенностью *M. tuberculosis*. Разнообразные взаимодействия между различными системами токсин-антитоксин *M. tuberculosis* могут способствовать повышению выживаемости патогена при стрессовых воздействиях, возникающих при инфицировании организма-хозяина. Одной из ключевых систем токсин-антитоксин, предположительно, участвующей в регуляции активности других систем токсин-антитоксин *M. tuberculosis*, является *VapBC46*. В более ранних работах было показано повышение уровня экспрессии *vapBC46* в ответ на различные стрессовые воздействия. Кроме того, неоспоримый интерес вызывает исследование влияния мутации C113G в гене токсина *vapC46* на скорость роста культуры в нормальных условиях, а также на выживаемость при воздействии антибиотиков, окислительного стресса и стресса, связанного с недостаточным поступлением соединений азота и углерода. Для более точной характеристики также необходима оценка влияния данной мутации на рибонуклеазную активность токсина *VapC46*.

Не меньший интерес для изучения представляет малоизученная система токсин-антитоксин *M. smegmatis* – *VapC2*. На основании более ранних работ предполагается участие токсина *VapC2* в регуляции активности шаперонного белка DnaK в условиях стресса, помимо собственной рибонуклеазной активности. При этом экспериментальная оценка рибонуклеазной активности токсина *VapC2* ранее никогда не проводилась, предположение о её наличии было сформулировано на основании данных биоинформатического и рентгеноструктурного анализа. Также в геноме *M. tuberculosis* была обнаружена гомологичная система токсин-антитоксин. Показано, что гомолог антитоксина у *M. tuberculosis* Rv2034 участвует в активации экспрессии оперона *dosR* –

ключевого регулятора перехода бактериальных клеток в дормантное состояние в ответ на стресс, связанный с гипоксией.

Полученные данные позволят прояснить механизм участия данных систем токсин-антитоксин в адаптации бактериальных клеток к стрессовым воздействиям.

### **Научная новизна**

В рамках диссертационной работы Акимовой Н. И. на модельной системе *M. smegmatis* впервые исследовано влияние мутации в гене токсина *varC46* C113G на рост в нормальных условиях, а также при воздействии антибиотиков, окислительного стресса и стресса, связанного с недостаточным поступлением соединений азота и углерода. Также впервые проведена оценка влияния мутации на рибонуклеазную активность токсина VarC46. Впервые изучено влияние системы токсин-антитоксин VarBC2 на устойчивость к антибиотикам и на выживаемость в условиях воздействия окислительного стресса. Впервые проведена экспериментальная оценка рибонуклеазной активности токсина VarC2.

### **Структура и содержание работы**

Диссертация Акимовой Н. И. представляет собой законченное научное исследование, оформленное в соответствии с требованиями ВАК. Диссертационная работа построена по традиционному плану и включает в себя следующие главы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы». В конце диссертации также приводится список сокращений и терминов.

Глава «Введение» содержит информацию, необходимую для понимания выбора темы исследования. В данной главе кратко описана актуальность исследуемой проблемы, чётко сформулированы цели и задачи исследования, охарактеризованы научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, приведены положения, выносимые на защиту, и данные об апробации полученных результатов.

В главе «Обзор литературы» проведён глубокий анализ научной литературы относительно современного состояния исследования роли систем токсин-антитоксин в адаптации бактериальных клеток к стрессовым воздействиям. Первая часть обзора литературы содержит общую информацию о бактериальных системах токсин-антитоксин: подходы к их классификации, функции, выполняемые системами токсин-антитоксин, механизмы регуляции активности систем токсин-антитоксин. Также формулируется понятие стресс-адаптивной функции, необходимое для более полного понимания темы диссертационной работы. Далее осуществляется переход от рассмотрения бактериальных систем токсин-антитоксин в целом к микобактериальным системам токсин-антитоксин и,

в частности к *VapBC46 M. tuberculosis* и *VapBC2 M. smegmatis*. Дополнительно рассматривается механизм участия систем токсин-антитоксин в фолдинге белков и регуляции оперона *dosR*. В заключительной части главы приводятся возможные области применения знаний о функционировании систем токсин-антитоксин.

В главе «Материалы и методы» достаточно подробно описаны многочисленные экспериментальные методики, используемые для решения задач, поставленных в рамках диссертационной работы.

Результаты, полученные в рамках проведения исследования, а также их анализ и интерпретация в полной мере представлены в главе «Результаты и обсуждение». Данная глава состоит из двух разделов. Первый раздел включает в себя данные, полученные при исследовании системы токсин-антитоксин *VapBC46 M. tuberculosis*. Во втором разделе приводятся и анализируются результаты для системы токсин-антитоксин *VapBC2 M. smegmatis*.

В главе «Заключение» ещё раз кратко обсуждаются и обобщаются полученные в ходе выполнения диссертационной работы данные, а также предполагаются дальнейшие перспективы исследований в данном направлении.

Выводы соответствуют поставленным задачам и полученным результатам. Все поставленные задачи были выполнены в ходе проведения исследовательской работы.

По теме работы опубликовано 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с установленными требованиями, полностью отражает результаты исследований и даёт достаточно полное представление о содержании диссертационной работы.

Диссертационная работа выполнена на достаточно хорошем уровне. Однако есть ряд замечаний:

1. В литературном обзоре не хватает иллюстраций к структурным описаниям различных систем ТА II. Хорошо было бы привести ссылки на структуры или картинки.
2. В разделе, описывающем использование ТА для клонирования, хорошо было бы дать ссылку на хромосомальный мутагенез с использованием системы *CI/hok* (Бубнов и соавт. NAR 2023).
3. Имеется определенная небрежность оформления, например: фраза «Продолжение таблицы» на стр. 40 приведена в середине таблицы 1.2.2.1., карты используемых векторов все разноформатные и т.д..

4. В работе строго доказана шаперонная активность VarC2 по отношению к денатурированной  $\beta$ -галактозидазе, однако этого результата в выводах не оказалось. Почему?

Диссертационная работа Акимовой Н. И. «Стресс-адаптивные характеристики систем токсин-антитоксин II типа VarBC46 *Mycobacterium tuberculosis* и VarBC2 *Mycobacterium smegmatis*» представляет собой законченное научное исследование, которое по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости соответствует критериям пп.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. № 842, с изменениями в Постановлении Правительства от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. №650, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. №1539, от 26.09.2022 г. № 1690, а её автор Акимова Н. И. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика.

#### Официальный оппонент

доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики, заместитель заведующего кафедрой биофизики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)



МАНУХОВ Илья Владимирович

Дата

31.01.2024

Контактные данные: Адрес: 141700, Московская обл., г. Долгопрудный, ул. Первомайская, д. 3, Корпус прикладной математики, 204.

Тел: моб. +7(905)562-29-24; +7 (495) 408-45-54

E-mail: manukhovi@mail.ru; info@mipt.ru

www.mipt.ru

Подпись доктора биологических наук, главного научного сотрудника, заведующего лабораторией молекулярной генетики, заместителя заведующего кафедры биофизики Манухова Илья Владимировича удостоверяю:

Учёный секретарь МФТИ



Евсеев Евгений Григорьевич