

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации **Замахаева Михаила Владимировича** на тему **«Роль токсин-антитоксिनных систем *VarBC* и *MazEF* в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к антибиотикам»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Диссертационная работа Михаила Владимировича Замахаева посвящена исследованию проблемы формирования фенотипической (ненаследуемой) устойчивости микобактерий к антибактериальным препаратам на примере *Mycobacterium smegmatis*. Широкое распространение латентных и персистирующих форм возбудителей инфекционных заболеваний, в частности возбудителя туберкулеза – *Mycobacterium tuberculosis* – существенно осложняет терапию и способствует рецидивам заболевания. Изучение молекулярных механизмов перехода бактерий в состояние покоя и формирования толерантности к лекарственным средствам является необходимым условием для разработки новых терапевтических стратегий. В этой связи исследование роли токсин-антитоксिनных систем как потенциальных регуляторов перехода микобактерий в покоящееся состояние представляется чрезвычайно своевременным и актуальным. Выбор *M. smegmatis* в качестве модельного объекта обоснован его генетической близостью к *M. tuberculosis*, что в сочетании с высокой скоростью роста и отсутствием патогенности позволяет проводить широкий спектр молекулярно-генетических и физиологических экспериментов в безопасных условиях.

В ходе выполнения работы автором впервые проведён комплексный анализ влияния гиперэкспрессии токсина *VarC* на протеомный профиль *M. smegmatis*, что позволило выявить глобальные перестройки метаболизма, включая активацию альтернативных путей получения энергии (глиоксилатный шунт, шунт гамма-аминомасляной кислоты) и развитие общего стрессового ответа. Особого внимания заслуживает обнаружение ассоциации рибосом с клеточной мембраной в условиях гиперэкспрессии *VarC*, а также идентификация сайта расщепления 23S рРНК в области сарцин-рициновой петли, который практически полностью совпадает с мишенью гомологичного токсина *VarC20* в клетках *M. tuberculosis*. Данный результат раскрывает консервативный молекулярный механизм действия токсинов семейства *VarC* у микобактерий и подтверждает обоснованность использования *M. smegmatis* в качестве модели для изучения физиологии возбудителя туберкулеза.

Кроме того, в работе впервые показано, что активация транскрипции ТА-локусов *varBC* и *mazEF* происходит специфично в ответ на воздействие антибиотика тетрациклина, но не антибиотиков других классов (на примере ципрофлоксацина и изониазида), что указывает на тонкую регуляцию ответа на стресс, связанный с ингибированием трансляции. Эксперименты с делеционными

мутантами демонстрируют сложное перекрестное взаимодействие систем VarBC и MazEF в модуляции чувствительности к тетрациклину и образовании некультивируемых покоящихся форм.

Достоверность полученных результатов обеспечивается применением широкого арсенала современных молекулярно-биологических, микробиологических и аналитических методов, включающих количественную ПЦР в реальном времени, протеомное профилирование методом жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии, а также анализ методом удлинения праймера для точного картирования сайта разрезания РНК. Все эксперименты выполнены с необходимыми биологическими повторами, а полученные данные обработаны с использованием адекватных статистических критериев.

Теоретическая значимость диссертации М.В. Замахаева заключается в существенном расширении представлений о физиологической роли ТА-систем микобактерий. Полученные данные раскрывают молекулярный механизм действия токсина VarC, заключающийся в специфическом расщеплении 23S рРНК и последующей инактивации рибосом, что влечёт за собой глобальное перепрограммирование метаболизма клетки и способствует её переходу в состояние покоя. Практическая значимость работы определяется тем, что раскрытые механизмы формирования фенотипической устойчивости могут служить основой для разработки новых подходов к терапии персистирующих инфекций.

В ходе прочтения автореферата возникли следующие вопросы:

1) В качестве гена для нормировки при количественной ПЦР использовалась 16S рРНК. Учитывая, что тетрациклин действует на рибосому, нельзя полностью исключить возможное изменение транскрипции рибосомальных генов или стабильности самой 16S рРНК в условиях стресса. Проводилась ли дополнительная нормализация на другие, более стабильные в данных условиях гены «домашнего хозяйства» (например, *sigA* или *gyrB*) для подтверждения полученных результатов?

2) Автором убедительно показано, что тетрациклин индуцирует транскрипцию varBC и mazEF. Из любопытства: рассматривалась ли возможность проверить индукцию этих же ТА-локусов под действием канамицина — аминогликозида, который, как и тетрациклин, связывается с 30S-субъединицей, но при этом клинически значим для терапии туберкулёза? Проводились ли в лаборатории такие эксперименты, и если нет — не планируются ли они как логичное продолжение?

На основании вышеизложенного, диссертационная работа Замахаева Михаила Владимировича «Роль токсин-антитоксिनных систем VarBC и MazEF в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к антибиотикам» является завершённым научно-квалификационным исследованием; по своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О

порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в действующей редакции), а её автор Замахаев Михаил Владимирович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Я, Шитиков Егор Александрович, даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии РАН» и в Федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело соискателя и дальнейшую обработку.

Заведующий лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства»


д. б. н.  
тел 89168352432  
почта: eshitikov@mail.ru



Шитиков Егор Александрович

Подпись сотрудника  
ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России  
Е.А. Шитикова удостоверяю:  
Специалист по кадрам



  
С.И. Дьячкова  
12.05.2026

« 12 » мая 2026 г.

Контактная информация: 119435, г. Москва ул. Малая Пироговская дом 1а,  
Телефон: +7 (499) 246-44-09. Сайт: <https://rcrcm.ru/science/>. Адрес электронной почты: [niifhm@fmbamail.ru](mailto:niifhm@fmbamail.ru).