

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Замахаева Михаила Владимировича
«Роль токсин-антитоксиновых систем VarBC и MazEF в формировании
фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к антибиотикам»,
представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы диссертационного исследования

Проблема роста антибиотикорезистентности является одной из главных угроз современной глобальной медицины. Особое место в этой проблеме занимает туберкулез, вызываемый *Mycobacterium tuberculosis*. Сложность терапии этого заболевания усугубляется способностью возбудителя переходить в латентное (покоящееся) состояние, характеризующееся фенотипической устойчивостью к антибактериальным препаратам. Молекулярные механизмы формирования такого состояния и роль в этом процессе токсин-антитоксиновых (ТА) систем остаются до конца не изученными.

Диссертационная работа М.В. Замахаева посвящена выяснению роли ТА-систем VarBC и MazEF в формировании фенотипической устойчивости у *Mycobacterium smegmatis* – удобного и безопасного модельного организма для изучения физиологии возбудителя туберкулеза. Учитывая, что геном *M. tuberculosis* содержит множество копий ТА-систем, понимание их базовых функций на модели с меньшим их числом является критически важным. Таким образом, тема диссертации, целью которой является определение роли ТА-систем в формировании устойчивости к антибиотикам, безусловно, актуальна и имеет как фундаментальное, так и прикладное значение для разработки новых стратегий борьбы с персистенцией микобактерий.

открывают перспективы для поиска соединений, блокирующих этот процесс. Такие соединения могли бы предотвращать формирование фенотипической устойчивости и латентных форм инфекции, повышая эффективность стандартной антибиотикотерапии.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций

Достоверность полученных результатов обеспечена использованием широкого спектра современных методов исследования: от классической микробиологии и генетического конструирования до высокотехнологичных подходов протеомного анализа (ЖХ-МС/МС), транскриптомики (РНК-секвенирование) и тонких биохимических методов (удлинение праймера). Эксперименты выполнены с использованием необходимых контролей (штаммы с "пустым" вектором, делеционные мутанты), а полученные данные обработаны статистически. Выводы диссертации логично вытекают из полученных результатов и полностью соответствуют поставленным задачам. Положения, выносимые на защиту, нашли свое экспериментальное подтверждение в работе.

Структура и содержание работы

Диссертация построена по традиционному плану, изложена на 225 страницах машинописного текста, содержит 23 рисунка и 8 таблиц. Список литературы включает 390 источников.

Обзор литературы (глава 1) написан профессионально и глубоко. Автор подробно анализирует современные данные о классификации ТА-систем (I–VIII типов), их молекулярных мишенях и физиологических ролях, включая формирование персистенции и защиту от фагов. Отдельный раздел посвящен детальному анализу понятий «резистентность», «толерантность» и «персистенция» применительно к микобактериям, что задает корректный терминологический контекст для всей работы. В заключительной части обзора рассмотрены перспективы использования ТА-систем в качестве мишеней для

новых антибактериальных стратегий. Обзор свидетельствует об отличной ориентации автора в проблеме.

В главе «**Материалы и методы**» (глава 2) подробно описаны все использованные в работе бактериальные штаммы, условия культивирования, методы генетической инженерии (создание делеций и плазмид для гиперэкспрессии), протеомного и транскриптомного анализа. Описание методов дано с достаточной степенью детализации, позволяющей воспроизвести эксперименты.

Результаты и обсуждение (глава 3) составляют основную часть диссертации и включают несколько логически связанных блоков. Вначале автором создана необходимая линейка штаммов и показана специфичность активации ТА-систем тетрациклином. Далее проведен глубокий протеомный анализ штамма с гиперэкспрессией *VarC*, результаты которого блестяще интерпретированы. Автор не просто перечисляет изменившиеся белки, а строит на их основе стройную картину физиологической перестройки клетки: «заякоривание» рибосом на мембране, переключение метаболизма, активация стресс-ответа. Эксперименты с делеционными мутантами подтверждают ключевую роль системы *VarBC* в защите от тетрациклина и выявляют ее сложные взаимодействия с *MazEF*. Кульминацией работы является блестящий эксперимент по картированию сайта расщепления 23S рРНК, который не только объясняет механизм инактивации рибосом, но и демонстрирует эволюционную консервативность этого механизма у микобактерий (подтверждено гетерологичной экспрессией в *M. tuberculosis*). Работа завершается логичным заключением и выводами.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

При общей высокой оценке работы, в ходе ее анализа возникли следующие вопросы и замечания дискуссионного характера:

1. В разделе 3.2 показано, что гиперэкспрессия *MazF* приводит к гибели значительной части популяции, в то время как гиперэкспрессия *VarC* вызывает остановку роста. Как автор объясняет такое различие в

физиологических эффектах двух рибонуклеазных токсинов с учетом их предполагаемых мишеней?

2. Автор демонстрирует сложное перекрестное взаимодействие систем VarBC и MazEF в формировании устойчивости к тетрациклину (рис. 14). Есть ли экспериментальные данные или гипотезы о молекулярной основе этого взаимодействия? Может ли антитоксин одной системы напрямую связывать токсин другой?

3. На рисунке 23 представлена элегантная схема гипотетического механизма. Насколько автору известно, существуют ли у микобактерий гомологи белков, подобных *E. coli* YqjD, которые могли бы выступать в роли специализированных «якорей» для инактивированных рибосом на мембране?

4. В работе встречаются отдельные стилистические погрешности и опечатки, не влияющие на общее положительное впечатление.

Высказанные замечания носят частный или дискуссионный характер и не умаляют значимости полученных результатов и общую высокую оценку работы.

Заключение

Диссертационная работа Замахаева Михаила Владимировича является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная задача – раскрыты молекулярные механизмы участия токсин-антитоксиновых систем VarBC и MazEF в формировании фенотипической устойчивости у микобактерий. Полученные результаты вносят существенный вклад в понимание биохимических основ персистенции и могут служить фундаментом для разработки новых подходов к терапии туберкулеза.

По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским

диссертациям, а ее автор, Замахаев Михаил Владимирович, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент

заведующий лабораторией иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной инфекции Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук по специальности 14.03.07. Химиотерапия и антибиотики, 14.03.09. Клиническая иммунология, аллергология, профессор

 М.А. Владимирский

Адрес:
127473, г. Москва, ул. Достоевского, 4
телефон: 8(495)681-74-32
электронная почта: mvladimirskij@mail.ru

Я, Владимирский Михаил 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.

 М.А. Владимирский

Подпись д.м.н., профессора М.А. Владимирского заверяю

Заместитель директора по научной работе
ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России
Доктор медицинских наук



А.Г. Самойлова

«28» апрель 2026 г.