

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова

Российской академии наук



  
А.В. Мисюрин

«04» мая 2026 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию соискателя Замахаева Михаила Владимировича «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

#### Актуальность диссертационной работы

Диссертационная работа Замахаева Михаила Владимировича посвящена исследованию роли токсин-антитоксिनных систем VarBC и MazEF в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к антибиотикам. Работа выполнена на сохраняющую актуальность на протяжении многих лет и научно значимую тему, связанную с изучением молекулярных механизмов бактериальной персистенции, толерантности к антибактериальным препаратам и перестройки трансляционного аппарата микобактерий в стрессовых условиях.

Следует отметить, что представленная диссертационная работа является частью цикла многолетних исследований, посвященных функциональной роли и механизмам активности токсин-антитоксिनных систем у микобактерий, включая *Mycobacterium tuberculosis*, которые проводились в Институте биохимии им. А.Н. Баха, а в дальнейшем — в рамках Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН. Ведущая организация — ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН — также принимала участие в исследованиях функциональной роли токсин-антитоксिनных систем, в том числе на других бактериальных объектах. Современное понимание актуальности и перспектив изучения данных систем

отражено, в частности, в недавно опубликованном обзоре Н. И. Акимовой и соавт. (Molecular Biology, 2026), в котором рассматриваются классификация, функции и перспективы применения токсин-антитоксиновых систем, в том числе у *Mycobacterium tuberculosis*.

Актуальность диссертационного исследования не вызывает сомнений. В условиях роста числа случаев неэффективной антибиотикотерапии особую значимость приобретает изучение не только наследуемой антибиотикорезистентности, но и фенотипической устойчивости, основанной на переходе части бактериальной популяции в состояние сниженной метаболической активности. Для микобактерий эта проблема имеет принципиальное значение, поскольку формирование покоящихся и персистирующих форм рассматривается как один из ключевых факторов хронического течения инфекции, латентности и рецидивов. В этой связи изучение токсин-антитоксиновых систем, способных модулировать активность рибосом и синтез белка, не потеряло своей актуальности и имеет фундаментальное значение для современной биохимии и молекулярной микробиологии.

### **Новизна полученных результатов**

В диссертационной работе М.В. Замахаева впервые получены результаты, существенно расширяющие представления о молекулярных механизмах участия токсин-антитоксиновых систем в физиологии микобактерий.

1. Показано, что экспрессия ТА-локусов *vapBC* и *mazEF* индуцируется тетрациклином, но не изменяется под действием ципрофлоксацина и изониазида, что свидетельствует о специфической активации исследуемых локусов в зависимости от молекулярного механизма действия антибиотика.

2. На основе количественного протеомного анализа, выполненного методом жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией, выявлены характерные перестройки протеома при гиперэкспрессии токсина *VapC*, включая усиление признаков общего стрессового ответа, активацию немагистральных путей катаболизма, увеличение представленности рибосомальных белков в мембранной фракции и снижение представленности аминоксил-тРНК-синтетаз и факторов элонгации трансляции.

3. Установлен молекулярный механизм действия токсина *VapC* *M. smegmatis* — эндонуклеазное расщепление 23S рРНК в области сарцино-рициновой петли между нуклеотидами U2880 и A2881, практически совпадающее с мишенью токсина *VapC20* *M. tuberculosis*.

4. Показано, что делеция локуса *vapBC* повышает чувствительность *M. smegmatis* к тетрациклину, а дополнительная делеция *mazEF* возвращает фенотип

к уровню дикого типа, что указывает на функциональную взаимосвязь двух токсин-антитоксиновых систем.

5. Продемонстрирована функциональная активность токсина *VapC M. smegmatis* при гетерологичной экспрессии в клетках *M. tuberculosis*, что подтверждает общность ключевых механизмов действия токсинов *VapC* у данных видов микобактерий.

### **Обоснованность и достоверность научных положений и заключений**

Научные положения и выводы диссертационной работы М.В. Замахаева являются обоснованными и достоверными. Для решения поставленных задач использован комплекс взаимодополняющих современных методов, включающий генетическое конструирование штаммов *M. smegmatis* с гиперэкспрессией токсинов и делециями соответствующих локусов, количественный ПЦР-анализ, определение выживаемости культур в условиях действия антибиотиков и иных стрессовых факторов, протеомное профилирование методом ЖХ-МС/МС, фракционирование клеток, анализ РНК и картирование сайта расщепления 23S рРНК методом удлинения праймера. Такой методический подход является адекватным поставленным задачам и обеспечивает надежность полученных данных.

Достоверность результатов обеспечена корректной постановкой экспериментов, их воспроизводимостью, использованием необходимых контролей и статистической обработки данных. Выводы логично вытекают из представленных результатов и не противоречат современным литературным данным. По материалам диссертационного исследования опубликовано 4 статьи в журналах из перечня ВАК, индексируемых в Web of Science и Scopus, а результаты апробированы на научных конференциях.

### **Структура и содержание работы**

Диссертационная работа М.В. Замахаева имеет классическую для кандидатских диссертаций структуру и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы и приложения. Общий объем работы составляет 225 страниц; диссертация содержит 23 рисунка, 8 таблиц и список литературы из 390 наименований. В приложениях представлены детальные таблицы протеомного профилирования.

Во введении обоснована актуальность исследования, охарактеризована степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость, личный вклад автора, а также приведены сведения об апробации результатов и публикациях.

Обзор литературы написан на хорошем академическом уровне и охватывает классификацию и функции токсин-антитоксиновых систем, механизмы бактериальной персистенции и фенотипической устойчивости к антибиотикам, а также современные стратегии воздействия на ТА-системы.

Глава «Материалы и методы» изложена подробно и воспроизводимо. Глава «Результаты и обсуждение» является центральной частью работы и логично построена: в ней последовательно рассматриваются активация экспрессии ТА-локусов под действием антибиотиков, физиологические эффекты гиперэкспрессии токсинов, протеомные перестройки, участие системы *VapBC* в выживании клеток при стрессовых воздействиях, молекулярный механизм действия *VapC* и результаты гетерологичной экспрессии токсина в клетках *M. tuberculosis*. Такое построение позволяет проследить логику перехода от постановки задач к формированию целостной биохимической модели.

Особого внимания заслуживает протеомный раздел работы. Полученные данные свидетельствуют о том, что гиперэкспрессия *VapC* сопровождается увеличением представленности рибосомальных белков и компонентов *Sec*-комплекса в мембранной фракции при одновременном снижении представленности аминоксил-тРНК-синтетаз, факторов элонгации и факторов рециркуляции рибосом. На основании совокупности результатов автором предложена убедительная модель, согласно которой *VapC*-зависимое расщепление сарцин-рициновой петли 23S рРНК приводит к инактивации части рибосом, их мембранной ассоциации и переходу клеток в состояние пониженной метаболической активности. Эта модель хорошо согласуется современными представлениями о механизмах консервации рибосом и вносит существенный вклад в понимание биохимии стрессового ответа микобактерий.

Теоретическая значимость работы заключается в углублении представлений о роли токсин-антитоксиновых систем в регуляции трансляции, формировании состояния покоя и фенотипической устойчивости бактерий. Практическая значимость определяется тем, что полученные результаты создают научную основу для разработки новых подходов к подавлению бактериальной толерантности к антибиотикам и для поиска соединений, способных воздействовать на ТА-системы как на перспективные мишени антибактериальной терапии.

### **Замечания по содержанию диссертационной работы**

1. Несмотря на то, что в названии диссертации и в постановке задач фигурируют две токсин-антитоксиновые системы – *VapBC* и *MazEF*, молекулярный механизм раскрыт преимущественно для токсина *VapC*.

2. Экстраполяция полученных результатов на *Mycobacterium tuberculosis* представляется обоснованной и перспективной, однако в самой работе прямые эксперименты на патогенном виде носят ограниченный характер. Дальнейшая верификация предложенной модели в системе *M. tuberculosis* могла бы дополнительно усилить практическую и медико-биологическую значимость исследования.

3. Предложенный автором механизм мембранной ассоциации инактивированных рибосом является логичным и хорошо аргументирован совокупностью экспериментальных данных, однако отдельные его звенья пока сохраняют характер рабочей гипотезы и могут стать предметом последующих исследований.

Высказанные замечания, в значительной мере имеющие характер пожеланий на будущее, не снижают общей высокой оценки диссертации и носят дискуссионный характер.

### **Заключение**

Диссертационная работа Замахаева Михаила Владимировича на тему «Роль токсин-антитоксиновых систем *VarBC* и *MazEF* в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к антибиотикам» является завершенным самостоятельным научно-квалификационным исследованием, содержащим решение актуальной задачи биохимии — раскрытие молекулярных механизмов участия токсин-антитоксиновых систем в формировании фенотипической устойчивости микобактерий к антибиотикам.

По актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, уровню методического исполнения, теоретической и практической значимости полученных результатов диссертация полностью соответствует требованиям пунктов 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с действующими изменениями), а ее автор, Замахаев Михаил Владимирович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Диссертация заслушана на семинаре лаборатории генетики микроорганизмов ИОГен РАН «04» мая 2026 г. (Протокол № 169 от «04» мая 2026 г., присутствовало 20 человека, «За» — 20, «Против» — 0, «Воздержались» — 0).

Сведения о составителе отзыва:

