

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.233.01 ПО ЗАЩИТЕ
ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК,
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ» РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело №

Решение диссертационного совета от 28 мая 2026 г. № 8
о присуждении Замахаеву Михаилу Владимировичу, гражданство Российская
Федерация, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль токсин-антитоксиновых систем *VarBC* и *MazEF* в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к антибиотикам» по специальности 1.5.4. Биохимия принята к защите 10 марта 2026 г. (протокол № 4) диссертационным советом 24.1.233.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2. Совет утверждён Федеральной службой по надзору в сфере образования и науки (Рособрнадзор), приказ № 2249-1602 от 16.11.2007 г., с учётом изменений в составе Совета в соответствии с приказами Минобрнауки России от 13 февраля 2013 года № 74/нк; от 10 февраля 2014 года № 55/нк; от 30 сентября 2015 года № 1166/нк; от 13 марта 2019 года № 222/нк; от 03 июня 2021 года № 561/нк и от 22 марта 2023 года № 501/нк.

Соискатель

Замахаев Михаил Владимирович в 2014 году с отличием окончил специалитет ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет» с присуждением квалификации «Микробиолог» по направлению 020209 Микробиология. В период с 2014 по 2018 год проходил обучение в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы

биотехнологии» Российской академии наук», освоил программу подготовки научно-педагогических кадров по направлению 06.06.01 Биологические науки, соответствующему научной специальности 1.5.4. Биохимия. С 2019 года и по настоящее время М.В. Замахаяев работает в должности младшего научного сотрудника в составе группы редактирования геномов микроорганизмов ФИЦ Биотехнологии РАН.

Научный руководитель:

Шумков Михаил Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник группы редактирования геномов микроорганизмов ФИЦ Биотехнологии РАН

Официальные оппоненты:

Владимирский Михаил Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной инфекции Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный Медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ермолаева Светлана Александровна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией экологии возбудителей инфекций Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Выбор официальных оппонентов обусловлен:

тем, что доктор медицинских наук, профессор Владимирский Михаил Александрович является одним из ведущих отечественных специалистов в области разработки методов контроля латентной туберкулёзной инфекции и борьбы с туберкулёзной инфекцией, вызванной штаммами *M. tuberculosis* с устойчивостью к антибиотикам.

тем, то доктор биологических наук Ермолаева Светлана Александровна является одним из ведущих отечественных специалистов в области исследования антибиотикорезистентных штаммов патогенных видов бактерий, а также в области разработки новых антимикробных соединений.

Квалификация оппонентов подтверждается наличием у них большого количества публикаций в рецензируемых российских и международных журналах.

Оба официальных оппонента дали положительные отзывы на диссертацию Замахаяева Михаила Владимировича.

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН) в своём положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, профессором Даниленко В.Н. и утверждённом директором ИОГен РАН, доктором биологических наук Мисюриным А.В., указал, что диссертационная работа М.В. Замахаева является завершённым, самостоятельным научно-квалификационным исследованием, соответствующим критериям, установленным Положением о присуждении учёных степеней, утверждённым Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор М.В. Замахаев заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Выбор ведущей организации был обусловлен тем, что ИОГен РАН является признанным научным центром в области изучения механизмов лекарственной устойчивости и разработки генетических технологий и препаратов для ее преодоления. В частности, на базе лаборатории генетики микроорганизмов ведётся изучение новых механизмов природной лекарственной устойчивости, поиск новых мишеней и разработка препаратов и технологий для борьбы с инфекционными бактериальными заболеваниями, отягощёнными множественной лекарственной устойчивостью. Таким образом, сотрудники ИОГен РАН являются высококвалифицированными специалистами, ведущими исследования, непосредственно связанные с тематикой диссертационной работы М.В. Замахаева. В целом, высокая квалификация оппонентов и сотрудников ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность данной диссертационной работы.

Публикации

Основные результаты диссертационной работы Замахаева М.В. изложены в 4 статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК РФ, что соответствует требованиям п. 11 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842.

1. **Замахаев М.В.**, Гончаренко А.В., Шумков М.С. Токсин-антитоксиновые системы и бактериальная персистенция (обзор) // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2019. – Т. 55. № 6. – С. 523-34.

2. **Zamakhaev M.**, Tsyganov I., Nesterova L., Akhova A., Grigorov A., Bespyatykh J., Azhikina T., Tkachenko A., Shumkov M. *Mycolicibacterium*

smegmatis possesses operational agmatinase but contains no detectable polyamines // *International Journal of Mycobacteriology*. – 2020. – V. 9. N. 2. – P. 138-43.

3. **Zamakhaev M.**, Grigorov A., Bespyatykh J., Azhikina T., Goncharenko A., Shumkov M. VapC toxin switches *M. smegmatis* cells into dormancy through 23S rRNA cleavage // *Archives of Microbiology*. – 2023. – V. 205. N. 1. – P. 28.

4. **Zamakhaev M.**, Bespyatykh J., Goncharenko A., Shumkov M. The Benefits of Toxicity: *M. smegmatis* VapBC TA Module Is Induced by Tetracycline Exposure and Promotes Survival // *Microorganisms*. – 2023. – V. 11. N. 12. – P. 2863.

Результаты работы также были представлены в виде устных и стендовых докладов на 5 российских и международных научных конференциях (и опубликованы в материалах этих конференций), таких как: II Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов», Пущино, 2015; Научная конференция молодых ученых по медицинской биологии ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА, Москва, 2016; Международная конференция Федерации Европейских Биохимических Обществ (FEBS), Иерусалим, Израиль, 2017; Отчётные конференции аспирантов ФИЦ Биотехнологии РАН, 2017, 2018.

В перечисленных публикациях адекватно отражены результаты экспериментальной работы, проведённой в рамках выполнения диссертации.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзывы официальных оппонентов

Владимирского Михаила Александровича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной инфекции Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный Медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Российской Федерации (положительный). Отзыв содержит одно замечание:

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

Также отзыв содержит следующие вопросы:

1. В разделе 3.2 показано, что гиперэкспрессия MazF приводит к гибели значительной части популяции, в то время как гиперэкспрессия VapC 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?

Ермолаевой Светланы Александровны, доктора биологических наук, заведующей лабораторией экологии возбудителей инфекций Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (положительный). Отзыв полностью зачитывается ученым секретарем диссертационного совета. Отзыв содержит одно замечание:

1. Единственным замечанием к стилистике работы является довольно странное расположение подписей к некоторым рисункам, где номер рисунка и его название следует не до, а после текста, описывающего содержание рисунка.

Также отзыв содержит следующие вопросы:

1. На рисунке 13 приводится число КОЕ в присутствии ингибирующей концентрации тетрациклина 5 мкг/мл, показывающее, что при такой концентрации гиперэкспрессия *VarC* не вызывает уменьшения КОЕ по сравнению с контролем. В этой связи возникает вопрос, высокие концентрации тетрациклина не стимулируют продукцию токсинов?

2. При высоких концентрациях тетрациклина делеция *varBC* приводит к уменьшению КОЕ, если только одновременно с *varBC* не происходит делеция *mazEF*. Автор предполагает, что это связано с потенциальным прямым взаимодействием между токсином *MazE* и антитоксином другой пары *VarV*. А есть какие-то альтернативные гипотезы?

Отзыв ведущей организации **Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук** (положительный); отзыв содержит следующие замечания:

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

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.

На автореферат поступили положительные отзывы от:

Ердякова Алексея Константиновича, кандидата биологических наук, доцента кафедры физиологии и патологии, заместителя декана по внеучебной работе факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; вопросов и замечаний нет.

Ушакова Вадима Юрьевича, кандидата биологических наук, доцента кафедры физиологии растений и экологии почв Пермского государственного национального исследовательского университета; отзыв содержит одно замечание:

1. Хотелось бы отметить отсутствие в автореферате обобщающей схемы, отражающей модель формирования фенотипической устойчивости, предложенную в работе, и связь между ее отдельными этапами.

Ажикиной Татьяны Леодоровны, доктора биологических наук, заведующей лабораторией регуляторной транскриптомики ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук; отзыв содержит одно замечание:

1. Используются стилистически некорректные словосочетания: «мембранная фракция протеомного профиля» (стр. 11), «испытывает торможение роста» (стр. 10), «раскрытие молекулярного механизма» (стр. 17), «разгонка в агарозном геле», «тотальный экстракт РНК» (стр. 19).

Также отзыв содержит следующие вопросы:

1. В работе обсуждается активация ТА-систем в ответ на тетрациклин. Насколько этот процесс может быть обратим после прекращения действия стрессового фактора?

2. Определяли ли количественно уровень экспрессии *VarC* в гиперэкспрессирующем штамме? Как этот уровень соотносится с физиологическим при тетрациклиновом стрессе?

Шитикова Егора Александровича, доктора биологических наук, заведующего лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства; отзыв содержит 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?

Щулькина Алексея Владимировича, доктора медицинских наук, доцента кафедры фармакологии Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова; вопросов и замечаний нет.

Егоровой Дарьи Олеговны, доктора биологических наук, доцента, заместителя директора Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук; вопросов и замечаний нет.

Ткаченко Александра Георгиевича, доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией адаптации микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук; отзыв содержит следующие вопросы:

1. На каком этапе, по вашему мнению, может происходить расщепление рибосомальной РНК при воздействии VarC: во время транскрипции, по ее завершении или в процессе включения в рибосому?

2. Могут ли мембранно-связанные, инактивированные при воздействии VarC токсина рибосомы возобновлять белоксинтезирующую активность после переноса клеток в оптимальные условия?

3. Можно ли отнести ТА модуль VarBC к категории факторов гибернации рибосом с новым, ранее не описанным механизмом действия?

С вопросами выступили:

д.б.н. Топунов А.Ф., д.б.н. Агафонов М.О., д.х.н. Еремин С.А., д.б.н. Марданов А.В., д.б.н. Терёшина В.М., д.б.н., проф. Шумянцева В.В., д.х.н., проф. Дзантиев Б.Б.

В обсуждении приняли участие:

д.б.н. Топунов А.Ф., д.х.н. Еремин С.А., д.фарм.н. Макаров В.А.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **получены следующие основные результаты:**

1. Уровень транскрипции ТА-локусов *varBC* и *mazEF* в клетках *M. smegmatis* возрастает в присутствии тетрациклина, но не меняется при действии изониазида и ципрофлоксацина.

2. Делеция ТА-локуса *varBC* приводит к увеличению чувствительности *M. smegmatis* к тетрациклину, но не к ципрофлоксацину и изониазиду; введение дополнительной делеции по локусу *mazEF* возвращает фенотип к дикому типу.

3. В условиях гиперэкспрессии токсина VarC наблюдается увеличение представленности белков системы общего стрессового ответа и немагистральных путей катаболизма, таких, как глиоксилатный шунт и шунт гамма-аминомасляной кислоты.

4. Гиперэкспрессия токсина VarC приводит к увеличению представленности в мембранной фракции клеток *M. smegmatis* рибосомальных белков и компонентов Sec-комплекса, но вызывает снижение представленности аминоацил-тРНК-синтетаз и факторов элонгации трансляции, что может влиять на чувствительность к антибиотикам, ингибирующим трансляцию.

5. Механизм действия токсина VarC *M. smegmatis* связан с расщеплением сарцин-рициновой петли 23S рРНК между нуклеотидами U2880 и A2881, что почти полностью совпадает с мишенью токсина VarC20 *M. tuberculosis*.

6. Гиперэкспрессия VarC *M. smegmatis* в клетках *M. tuberculosis* приводит к снижению скорости роста его культуры, указывая на общность механизмов действия токсинов VarC этих видов микобактерий.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что по итогу проведения исследования был предложен механизм перехода клеток *M. smegmatis* в покоящееся состояние вследствие расщепления рРНК, вызванного активностью ТА-системы VarBC, с последующим перенаправлением белкового синтеза и инактивацией рибосом в состоянии ассоциации с цитоплазматической мембраной. Также было показано, как

описанный механизм позволяет клеткам *M. smegmatis* формировать фенотипическую устойчивость к антибиотикам, направленным на подавление функциональности рибосом (на примере тетрациклина), где выживаемость отдельных клеток в общей популяции зависит от соотношения молекул токсинов и антитоксинов ТА-систем *VarBC* и *MazEF*, а также от перекрестного взаимодействия между ними. Кроме того, была установлена общность механизмов действия токсина *VarC* у *M. smegmatis* и *M. tuberculosis*. Полученные результаты важны для понимания процессов, лежащих в основе формирования бактериями толерантности к действию антибактериальных препаратов.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные результаты важны для понимания процессов, лежащих в основе формирования бактериями толерантности к действию антибиотиков. С практической точки зрения полученные результаты могут быть использованы при разработке принципиально новых классов антибактериальных соединений, направленных на подавление формирования клетками фенотипической устойчивости к антибиотикам и предотвращающих развитие латентных инфекций.

Оценка достоверности результатов исследования обусловлена их воспроизводимостью, независимостью проведенных экспериментов друг от друга, использованием современных и адекватных поставленным задачам методов исследования, а также применением корректных методов статистической обработки данных. Выводы диссертации чётко сформулированы и отражают наиболее значимые результаты работы.

Личный вклад соискателя заключается в том, что диссертант лично участвовал в разработке плана исследований, проведении большинства экспериментов, анализе полученных результатов и подготовке научных публикаций.

Заключение

Диссертационная работа Замахаева Михаила Владимировича является законченным научно-квалификационным исследованием, что подтверждается использованием современных и адекватных поставленным задачам методов, объёмом проведённых экспериментов, их научной новизной, теоретической и практической значимости полученных результатов. Выводы и положения, выносимые на защиту, логически обоснованы и подкреплены публикациями в рецензируемых журналах (4 статьи). Таким образом, работа М.В. Замахаева выполнена на высоком методическом уровне, является актуальной для научно-технического развития в области биохимии и медицинской микробиологии и устанавливает функциональную роль токсин-антитоксиновых систем *VarBC* и

MazEF в формировании фенотипически устойчивых клеток *Mycobacterium smegmatis* к антибактериальным препаратам.

На заседании 28 мая 2026 года диссертационный совет принял решение присудить Замахаеву Михаилу Владимировичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 10 докторов биологических наук, 7 докторов химических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета 24.1.233.01,

«За» присуждение учёной степени – 18,

«Против» – нет,

Недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя диссертационного совета
доктор химических наук, профессор

Б.Б. Дзантиев

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук



А.Ф. Орловский

«28» мая 2026 г.