



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32
www.fbras.ru, info@fbras.ru

06.10.2025

№ 85-01-19/145

На №

от

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального
государственного

учреждения «Федеральный
исследовательский центр
«Фундаментальные основы
биотехнологии» РАН
Д.б.н. Федоров А.Н.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» на диссертационную работу Замахаева Михаила Владимировича «Роль токсин-антитоксिनных систем VarBC и MazEF в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к антибиотикам», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия, выполненную в группе редактирования геномов микроорганизмов Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Замахаев Михаил Владимирович в 2014 году с отличием окончил специалитет Вятского государственного университета по направлению 020209 «Микробиология». В период с 2014 по 2018 год проходил обучение в очной аспирантуре ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», освоил программу подготовки научно-педагогических кадров по направлению 06.06.01 Биологические науки (диплом об окончании аспирантуры 107705 0006886), соответствующему научной специальности 1.5.4. Биохимия. С 2019 года и по настоящее время М.В. Замахаев работает в составе группы редактирования геномов микроорганизмов в должности младшего научного сотрудника. Все экзамены кандидатского минимума сданы.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Шумков Михаил Сергеевич, старший научный сотрудник группы редактирования геномов микроорганизмов Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

По результатам рассмотрения диссертации «Роль токсин-антитоксиновых систем *VarBC* и *MazEF* в формировании фенотипической устойчивости *M. smegmatis* к антибиотикам» принято следующее заключение:

Актуальность работы

Одной из главных проблем современного здравоохранения являются всё учащающиеся случаи неудачной антибиотикотерапии. Наиболее очевидная причина этого заключается в том, что успешное использование антибактериальных препаратов может быть скомпрометировано развитием бактериальной резистентности. Хотя генетически обусловленная устойчивость к антибиотикам является основной, существуют механизмы, при которых бактерии могут избегать летального действия данных соединений путём перехода в физиологические состояния, в котором антибактериальные агенты не убивают их – к ним, например, относятся такие явления, как состояние покоя, а также персистенция.

Согласно статистике ВОЗ, заболевание туберкулёзом является одной из самых распространённых причин гибели людей в результате поражения инфекционными заболеваниями. Во многих случаях переход этого заболевания в острую форму связан с реактивацией латентной формы инфекции, носителями которой являются миллиарды людей по всему миру. Развитие латентной формы заболевания обусловлено способностью возбудителя инфекции – *Mycobacterium tuberculosis* (МТВ) – образовывать покоящиеся формы, для которых характерна способность пребывать в неактивном состоянии на протяжении длительного времени, но реактивировать при благоприятных условиях, например, при ослаблении иммунной системы хозяина. Кроме того, помимо состояния глубокого покоя, существуют промежуточные состояния, приводящие к бактериальной персистенции. Все эти состояния также связаны с формированием возбудителем устойчивости к антибактериальным препаратам, которая носит фенотипический, ненаследуемый характер и связана, по-видимому, с физиологическими процессами, происходящими внутри клеток возбудителя. Переход бактерий в состояние покоя представляет собой сложное явление, которое характеризуется остановкой роста, сниженным уровнем метаболизма и повышенной устойчивостью к стрессовым условиям. Известно, что токсин-антитоксиновые (ТА) системы участвуют в формировании покоящихся клеток бактерий. В частности, это показано для системы *VarBC* *M. smegmatis*. Важно отметить, что у МТВ к настоящему времени идентифицировано 79 пар ТА-локусов. Токсины способны расщеплять матричную, транспортную и рибосомальную РНК, регулировать генную экспрессию, изменяя спектр транслируемых белков, участвовать в переходе активных клеток в состояние персистенции. Такая многофункциональность белков токсинов может быть связана с глобальными перестройками метаболизма в бактериальных клетках, за счет чего, гипотетически, ТА-локусы и реализуют свою активность в качестве индукторов перехода микобактерий в состояние покоя. Для изучения молекулярных механизмов, посредством которых ТА-системы способствуют

формированию микобактериями толерантности к действию антибиотиков, в качестве объекта исследования был выбран *Mycolicibacterium smegmatis* (базоним *Mycobacterium smegmatis*) – близкий родственник МТВ, обладающий при этом высокой скоростью роста и отсутствием факторов патогенности и поэтому широко используемый в качестве модельного объекта в исследованиях физиологии возбудителя туберкулёзной инфекции.

Целью представленной работы является определение роли токсин-антитоксиновых систем VarBC и MazEF в формировании фенотипической устойчивости *M. smegmatis* к антибиотикам.

Научная новизна

На сегодняшний день известные исследования физиологической роли токсинов микобактерий и, в частности, токсина VarC проводились либо в условиях *in vitro*, либо при гиперэкспрессии VarC. Авторами в основном применялись методы транскриптомики, такие как, например, microarray-анализ и РНК-секвенирование, но без сочетания с экспериментами, проводимыми на уровне протеомики. В ходе данной работы активность токсина VarC исследуется в его «естественной среде» (то есть в клетках *M. smegmatis*); кроме того, применяется сопоставление протеомного профилирования, результатов РНК-секвенирования и экспериментов на уровне физиологии бактериальных популяций.

Полученные результаты впервые раскрывают молекулярный механизм действия токсина VarC в клетках *M. smegmatis*, определена мишень эндорибонуклеазной активности VarC, а также роль токсина в регуляции белкового синтеза в клетках в контексте адаптации бактерий к стрессовым условиям, в частности к действию антибиотиков, что может приводить к формированию фенотипической устойчивости на уровне субпопуляций клеток.

Теоретическая и практическая значимость

По итогам 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.

Принимая во внимание накопленные за годы исследований данные об участии ТА-систем в широком спектре физиологических процессов у бактерий, таких как развитие стрессового ответа, индукция состояния персистенции и образования биоплёнок, а также связь активности модуля *VarBC* с вирулентностью микроорганизмов 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.

Личный вклад

Диссертант лично участвовал в разработке плана исследований, проведении большинства экспериментов, анализе полученных результатов и подготовке научных публикаций.

Степень достоверности

Осуществленные в ходе исследования эксперименты характеризуются воспроизводимостью, проведенные измерения и установленные закономерности подтверждаются статистическими критериями и согласованностью результатов, полученных в ходе применения различных методик согласно поставленным задачам.

Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите

Представленная Замахаевым М.В. диссертационная работа посвящена исследованию механизмов функционирования токсин-антитоксиновых систем *varBC* и *mazEF* в формировании фенотипической устойчивости бактерий *M. smegmatis* к антибиотикам. Работа соответствует специальности 1.5.4. Биохимия, по которой она рекомендуется к защите.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем ученой степени

По материалам диссертационного исследования было опубликовано 4 статьи в журналах, входящих в список ВАК, а также индексируемых в научных базах данных Web of Science и Scopus. Результаты работы в виде устных и стендовых докладов были представлены на пяти научных конференциях.

Список публикаций

Статьи в рецензируемых журналах

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.

Тезисы конференций

1. **Замахаев М.В.**, Гончаренко А.В., Шумков М.С. Роль токсин-антитоксиновых систем в персистообразовании *Mycobacterium smegmatis* в условиях действия тетрациклина. II Пущинская школа-конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов»: сборник тезисов / под редакцией д-ра биол. наук Т.А. Решетиловой. Тула: Изд-во ТулГУ, 2015, с. 43-45.

2. **Замахаев М.В.**, Гончаренко А.В., Шумков М.С. Роль токсин-антитоксиновых систем в формировании фенотипической устойчивости *Mycobacterium smegmatis* к тетрациклину. Программа и научные труды Научной конференции молодых ученых по медицинской биологии ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА / Под ред. Е.Н. Ильиной, Е.С. Кострюковой. – М.: ФНКЦ ФХМ ФМБА России, 2016, с. 58-59.

3. **M. Zamakhaev**, J. Bespyatykh, A. Goncharenko, M. Shumkov, “How to turn it off? Role of VapC toxin in mycobacteria dormant state formation”, *The FEBS Journal*, vol. 284 (Suppl. 1), p. 360, 2017.

4. **Замахаев М.В.**, Шумков М.С. Изучение механизма действия токсина VapC в процессе формирования фенотипически устойчивых клеток *M. smegmatis*. Сборник тезисов отчетной конференции аспирантов: 19-25 июня 2017 г.: направление 06.06.01 «Биологические науки» / под редакцией В.О. Попова, К.Г. Скрыбина; сост. Е.С. Титова. – Москва: МАКС Пресс, 2017, с. 46-48.

5. **Замахаев М.В.**, Шумков М.С. Гиперэкспрессия VapC приводит к перенаправлению белкового синтеза в клетках *M. smegmatis*. Сборник тезисов отчетной конференции аспирантов: 25-28 июня 2018 г.: направление С23 подготовки 06.06.01 «Биологические науки» / под ред. В. О. Попова. К. Г. Скрыбина; сост. Е. С. Титова. – Москва: МАКС Пресс. 2018. – с. 54-57.

Рекомендуемые оппоненты:

Владимирский Михаил Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией иммунопатологии и иммунодиагностики туберкулезной инфекции ФГБУ «Национальный Медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России.

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

Рекомендуемая ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН).

На основании проведенного семинара диссертационная работа «Роль токсин-антитоксиновых систем *VarBC* и *MazEF* в формировании фенотипической устойчивости *M. smegmatis* к антибиотикам» Замахаева Михаила Владимировича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Заключение принято на заседании совместного семинара групп редактирования геномов микроорганизмов, биохимии адаптации микроорганизмов, геномного редактирования промышленных микроорганизмов, лабораторий биохимии стрессов микроорганизмов, молекулярной генетики и азотфиксации и метаболизма азота Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» путем открытого голосования. Присутствовало на семинаре – 15 человек. Результаты голосования: «за» – 15 человек, «против» – нет, «воздержались» – нет. Протокол № 1 от «16» июля 2025 г.

Председатель совместного семинара лабораторий

Заведующий лабораторией биохимии азотфиксации

и метаболизма азота, доктор биологических наук  Топунов А.Ф.

Секретарь

Младший научный сотрудник группы

редактирования геномов микроорганизмов



Армянинова Д.К.

06.10.2025

