

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации академик РАН, д.м.н., профессор



Дятлов Иван Алексеевич

«17» 06 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Диссертация «Молекулярно-генетическая характеристика гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*» выполнена в отделе подготовки и усовершенствования специалистов Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации. Тема диссертации утверждена Ученым советом ФБУН ГНЦ ПМБ 03.10.2018 г., протокол №7, с изменениями от 15.06.2022 г., протокол № 4.

В период подготовки диссертации соискатель Фурсов Михаил Васильевич работал в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, в отделе подготовки и усовершенствования специалистов, в должности научного сотрудника.

В 2012 г. окончил Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова по специальности «Почвоведение».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 07.06.2022 г. Федеральным бюджетным учреждением науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор биологических наук, Потапов Василий Дмитриевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, отдел подготовки и усовершенствования специалистов, главный научный сотрудник;

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Дятлов Иван Алексеевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, директор.

Обоснование назначения двух научных руководителей прилагается.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Фурсова М.В. «Молекулярно-генетическая характеристика гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*» является завершенной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертационная работа Фурсова М.В. соответствует отрасли науки «биологические науки» и паспортам специальностей 1.5.11. Микробиология в областях исследований по пунктам 1 – «Проблемы эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения», 2 – «Выделение, культивирование,

идентификация микроорганизмов», 3 – «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов» и 1.5.4. Биохимия в областях исследований по пунктам 10 – «Теоретические и прикладные проблемы природы и закономерностей химических превращений в живых организмах, молекулярных механизмов интеграции клеточного метаболизма, связей биохимических процессов с деятельностью органов и тканей, с жизнедеятельностью организма для решения задач сохранения здоровья человека, животных и растений, выяснения причин различных болезней и изыскания путей их эффективного лечения. Развитие методов генодиагностики, энзимодиагностики и научных принципов генотерапии и энзимотерапии» и 14 – «Исследования молекулярных механизмов реагирования клеточных компонентов и живых организмов на проникающую радиацию, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, электромагнитные поля, механические, холодовые, тепловые, химические, токсические и другие экстремальные воздействия. Биохимические исследования по созданию протективных средств на эти воздействия. Изучение роли активных форм кислорода, продуктов перекисного окисления и свободнорадикальных продуктов в нарушениях и регулировании метаболических процессов в биосистемах».

Личное участие соискателя заключалось в анализе научной литературы, планировании экспериментов, выполнении микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических, биологических экспериментов и анализе полученных результатов, в подготовке материалов для публикаций, в представлении устных и постерных докладов на конференциях. Отдельные разделы работы выполнены совместно с сотр. ФБУН ГНЦ ПМБ д.б.н. Потаповым В.Д., к.б.н. Комбаровою Т.И., к.б.н. Ганиной Е.А., к.х.н. Домотенко Л.В., к.б.н. Богуном А.Г., н.с. Грищенко Н.С., н.с. Рудницкой Т.И. и м.н.с. Колупаевой Н.В.; сотр. ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА к.б.н. Шитиковым Е.А.; сотр. НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи к.б.н. Васиной Д.В., к.б.н. Ткачуком А.П., к.б.н. Гуциным В.А. Достоверность результатов проведённых исследований определяется тем, что они получены с использованием современных методов исследования и оборудования,

поверенного и сертифицированного надлежащим образом, с привлечением статистических методов обработки данных и при сравнении полученных результатов с данными, опубликованными ранее в научной литературе по исследуемой тематике.

Новизна проведенных исследований состоит в том, что клинические штаммы *M. tuberculosis* 120/26, Ростов и 267/47, выделенные от людей с тяжелыми формами туберкулеза, отнесены к широко распространенным в РФ генетическим кладам CAO и B0/W148 возбудителя туберкулеза генотипа Beijing. Фенотипы резистентности этих штаммов идентифицированы как МЛУ, пред-ШЛУ и ШЛУ, соответственно. В геномах штаммов выявлены мутации, ассоциированные с резистентностью к противотуберкулезным препаратам. Показано, что уровень вирулентности изучаемых штаммов для мышей линии C57BL/6 превышал таковой референс-штамма H37Rv. Описаны изменения транскрипции 26 генов цитокинов (Ifn- γ , Tnf- α , Il-1 α , Il-1 β , Il-6, Il-7, Il-10, Il-12(p35), Il-12(p40), Il-13, Il-15, Il-17, Mx1, IFI44, Cxcl2, Cxcl5, Cxcl9, Cxcl10, Ccl2, Ccl3, Ccl4, Ccl5, Ccl11, Csf1, Csf2 и Vegf) в тканях легких мышей линии C57BL/6, зараженных клиническими штаммами *M. tuberculosis* 120/26 и 267/47, принадлежащими к генетическим кладам CAO и B0/W148, по сравнению с интактными мышами. Выявлен «ранний» ответ экспрессии 10 генов мРНК (MTS0997/Mcr11, MTS1338/Drrs, MTS2823/Ms1, B11/C6, Mpr5, Mcr3, Mcr15, Mcr7, Mpr11 и Mpr18) *in vitro* на стрессы («осмотический», «голодание», гипоксический, «кислотный», оксидативный), моделирующие условия окружения клеток *M. tuberculosis* в фагосомах макрофагов организма-хозяина. Показана профилактическая эффективность кандидатной БЦЖ-бустерной рекомбинантной субъединичной вакцины «ЛТБвак» на моделях острой туберкулезной инфекции у мышей линии C57BL/6 и морских свинок альбиносов и терапевтическая эффективность препарата «ЛТБвак» на модели хронического туберкулеза у мышей линии C57BL/6.

Практическая значимость работы заключается в том, что в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» депонированы 3 штамма *M. tuberculosis* B-9343, B-9344 и B-9351 – федеральный уровень внедрения. Геномы

штаммов *M. tuberculosis* Ростов, 267/47 и 120/26 размещены в базе данных GenBank [JAAMPG000000000.1, NZ_CP071128.1 и NZ_CP071127.1, соответственно] – международный уровень внедрения. Разработан прототип ПЦР тест-системы для детекции и определения уровней представленности транскриптов 26 генов цитокинов мышей (Ifn- γ , Tnf- α , Il-1 α , Il-1 β , Il-6, Il-7, Il-10, Il-12(p35), Il-12(p40), Il-13, Il-15, Il-17, Mx1, IFI44, Cxcl2, Cxcl5, Cxcl9, Cxcl10, Ccl2, Ccl3, Ccl4, Ccl5, Ccl11, Csf1, Csf2 и Vegf), который может быть использован при изучении иммунного ответа мышей на другие инфекции. Создан набор специфичных праймеров для детекции и определения уровней представленности транскриптов 10 малых некодирующих РНК *M. tuberculosis* – лабораторный уровень внедрения. Зарегистрирована в Госреестре База данных «Гены вирулентности *Mycobacterium tuberculosis*». Доказана профилактическая и терапевтическая эффективность кандидатной БЦЖ-бустерной рекомбинантной субъединичной вакцины «ЛТБвак», разработанной Национальным исследовательским центром эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи (Отчет по договору №372-н/2018 от 17.05.18).

Всего по теме диссертации опубликовано 16 печатных публикациях, из которых 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК, 1 База данных, 2 статьи в прочих изданиях, 8 тезисов докладов в сборниках трудов конференций.

Диссертация «Молекулярно-генетическая характеристика гипервирулентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis*» Фурсова Михаила Васильевича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11. микробиология и 1.5.4. биохимия в диссертационном совете 64.1.002.01 при ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора.

Заключение принято на заседании межлабораторного научного семинара Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации. Присутствовали на заседании 31 чел. Результаты голосования: «за»- 31 чел., «против»- нет, «воздержались»- нет, протокол № 60 от 19 мая 2022 г.



доктор медицинских наук, профессор
Анисимов Андрей Павлович,
заместитель директора по научной
работе Федерального бюджетного
учреждения науки «Государственный
научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в
сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека Российской
Федерации

Подпись
Анисимова Андрея Павловича
Заверяю:
Учёный секретарь
ФБУН ГНЦ ПМБ,
доктор биологических наук



Коломбет Любовь Васильевна