

**Отзыв на автореферат диссертации Гончаровой Юлии Олеговны на
тему «Аллельный полиморфизм факторов патогенности
сибиреязвенного микроба», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. –
Микробиология**

Сибирская язва – особо опасное заболевание животных и человека, вызываемое грамположительной спорообразующей бактерией *Bacillus anthracis*. Проведённое в последние годы типирование данного возбудителя с использованием молекулярно-генетических маркеров позволило выделить в рамках вида *B. anthracis* определенные группы штаммов, что послужило отправной точкой для изучения закономерностей распространения, циркуляции и эволюции патогена. Однако полиморфизм нуклеотидных последовательностей генов вирулентности и аминокислотных последовательностей соответствующих белков в глобальной популяции *B. anthracis* всё ещё остается малоизученным. Существуют лишь единичные работы, оценивающие аллельный полиморфизм некоторых генов *B. anthracis* на основе немногочисленной выборки штаммов без детального анализа филогенетической и филогеографической значимости полученных результатов. В связи с этим актуальность диссертационной работы Юлии Олеговны, посвящённой изучению аллельного полиморфизма генов факторов патогенности *B. anthracis* и корреляции последовательностей этих генов с другими генетическими и фенотипическими признаками, не вызывает сомнений.

Научная новизна проведённой Гончаровой Ю.О. работы состоит в использовании метода MVLST для генотипирования сибиреязвенного микроба, что в случае с *B. anthracis* сделано впервые. Автором показано, что применение MVLST-анализа в комплексе с другими методами генотипирования позволяет эффективно выявлять комбинации генетических маркеров, указывающих на вероятное географическое происхождение штаммов *B. anthracis*. Юлией Олеговной получены данные, позволившие ей связать MVLST-профили различных штаммов *B. anthracis* с их вирулентностью для лабораторных грызунов. Особый теоретический интерес вызывают данные, свидетельствующие в пользу гипотезы об антропогенном распространении *B. anthracis* через Евразию при монгольских завоеваниях в XIII-XVII вв.

Разработанные автором в ходе выполнения исследований методические подходы к подтверждению видовой принадлежности штаммов *B. anthracis*, определению их плазмидных профилей, проведению canSNP- и MLVA7-генотипирования, позволяют получать полноценную генетическую характеристику штаммов и с высокой точностью определять его относительное филогенетическое положение, что может быть использовано лабораториями, занимающимися проведением эпидрасследований вспышек

сибирской язвы. Кроме того, большую практическую значимость имеет и сконструированная автором панель олигонуклеотидов, которая может с успехом применяться при проведении эпидрасследований и фундаментальных исследований сибиреязвенного микроба.

Для решения поставленных задач Ю.О. Гончарова использовала широкий спектр современных молекулярно-генетических методов, включая полногеномное секвенирование с использованием двух NGS-технологий: полупроводникового секвенирования и секвенирования путём синтеза с обратимым терминированием. Достоверность экспериментальных данных не вызывает сомнений, так как Юлией Олеговной был проведён глубокий анализ полученных данных и их статистическая обработка с помощью специализированных программных пакетов.

Основные положения диссертационной работы Юлии Олеговны опубликованы в высокорейтинговых научных изданиях, и широко апробированы на ряде всероссийских и международных конгрессов и конференций.

В тоже время, после прочтения автореферата возникает ряд вопросов и замечаний, на которые хотелось бы получить ответ:

1. Каким образом автору удалось провести полногеномное секвенирование изученных штаммов на приборе для полупроводникового секвенирования «Ion Torrent PGM» с использованием библиотек ДНК, подготовленных с использованием набора реагентов «Nextera DNA Library Preparation Kit»?
2. Какое всё же в итоге число штаммов *B. anthracis* было подвергнуто MVLST-генотипированию? На странице 5 автор указывает, что в работе было использовано 60 штаммов из коллекции ФБУН ГНЦ ПМБ, а на странице 10 речь идёт о выборке из 98 штаммов. Вероятно, были использованы последовательности, ранее депонированные в GenBank, а не секвенированные *de novo*?
3. К сожалению, из раздела «Материалы и методы» не совсем ясно, какие именно статистики были использованы диссертантом при определении достоверности различий кривых выживаемости при заражении модельных животных различными штаммами *B. anthracis*.
4. В дальнейших работах диссертанта хотелось бы увидеть карту с исторической ретроспективой распространения штаммов *B. anthracis*, сопряженного с миграцией человеческих популяций по территории Евразии.

Вместе с тем, указанные недостатки не носят принципиального характера, и не оказывают существенного влияния на восприятие, целостность и ценность представленной Ю.О. Гончаровой работы. Они ни в коей мере не

снижают положительной оценки и теоретической и практической значимости диссертационной работы Юлии Олеговны.

Диссертационная работа «Аллельный полиморфизм факторов патогенности сибиреязвенного микроба» полностью отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, изложенным в п. 9, 10, 11, 13, 13 "Положения о порядке присуждения учёных степеней", утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2014 г., в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №723 от 30.07.2014, №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016, №650 от 29.05.2017, №1024 от 28.08.2017, №1168 от 01.10.2018, №426 от 20.03.2021 и №1539 от 11.09.2021, а её автор, Гончарова Юлия Олеговна, безусловно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. - Микробиология.

Фоменко Олег Юрьевич, кандидат биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия, старший научный сотрудник Центральной лаборатории микробиологии Федерального государственного автономного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности».

Адрес: 115093, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35, корпус 7.

Тел.: +7 (495) 236-31-64

Сайт: www.vnimi.org

E-mail: fomenych2001@mail.ru

17 января 2023 года

(подпись)

Подпись Фоменко О.Ю. заверяю:

Начальник отдела кадров ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»

Маркина Мария Андреевна



(подпись)