

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Красильниковой Екатерины Александровны
«Поиск факторов избирательной вирулентности полевоочьих штаммов
Yersinia pestis»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.03 – микробиология

Разнообразие внутривидовых групп чумного микроба благодаря микроэволюции внутри вида *Y. pestis* способствовало избирательной вирулентности отдельных филогенетических групп этого микроорганизма в отношении различных видов теплокровных животных, в том числе человека. И если штаммы чумного микроба *Y. pestis* subsp. *pestis* обладают известной сходной вирулентностью в отношении различных млекопитающих, то штаммы *Y. pestis* subsp. *microti* отличаются избирательной вирулентностью.

Причина установленного факта оставалась неизученной, несмотря на предпринятые попытки соотнести различия в вирулентности, например, со структурой липополисахаридов бактериальной клетки. Однако без глубокого исследования молекулярных механизмов формирования факторов избирательной вирулентности этот вопрос оставался открытым.

Поэтому поставленные и выполненные Е. А. Красильниковой задачи исследования в полной мере раскрывают цель диссертационной работы: поиск факторов избирательной вирулентности полевоочьих штаммов *Yersinia pestis*.

Научная новизна.

Автором исследования впервые выявлены пять специфичных белков, экспрессия которых увеличивалась у высоковирулентных для морских свинок субкультур штаммов *Y. pestis* subsp. *microti*, выращенных в диализных камерах, имплантированных в полость брюшины морских свинок.

Впервые доказано отсутствие влияния одиночной нокаутной мутации по гену *glnA* на вирулентность штаммов *Y. pestis* основного подвида для мышей и морских свинок; для аттенуации в отношении двух видов животных требуется генетический нокаут всего *glnALG* оперона.

Впервые установлено, что $\Delta glnALG$ штамм *Y. pestis* не вызывает гибели мышей и морских свинок при подкожном введении и обеспечивает 100 %-ную защиту животных при последующем заражении вирулентным штаммом *Y. pestis* 231 в дозе 200 DCL.

Впервые доказано, что делеция гена *metQ* ведет к аттенуации штамма *Y. pestis* основного подвида и для мышей, и для морских свинок.

Теоретическая значимость.

Полученные автором данные о молекулярных отличиях «полевоочьих» штаммов *Y. pestis* с различной степенью избирательной вирулентности расширяют представления о механизмах патогенеза инфекций бактериальной этиологии и микроэволюции их возбудителей.

В Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» (п. Оболенск Московской обл.) депонирован ряд штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis* bv. *orientalis*, дефектных по синтезу глутаминсинтетазы и продуктов двухкомпонентной системы регуляции глутамина, глутаминсинтетазы, белка теплового шока и субстрат-связывающей единицы ABC-транспортера метионина, и штаммы *Escherichia coli* – продуценты рекомбинантных белков Fba, HtpG, MetQ и GlnA.

Практическое значение работы.

Методический подход, заключающийся в анимализации путем последовательных тестикулярных пассажей, как правило, авирулентных для морских свинок при подкожном заражении «полевочных» штаммов чумного микроба, может быть применен для дифференциации бактериальных культур по степени их избирательной вирулентности.

Разработаны приемы культивирования вирулентных штаммов чумного микроба в перитонеальной полости морских свинок с использованием камер из диализной мембраны.

Определено инактивирующее действие химических реагентов для получения безопасных препаратов белков из вирулентных штаммов *Y. pestis*, пригодных после разделения путем двумерного электрофореза для дальнейшего масс-спектрометрического анализа.

Приоритет предложенного способа сенсibilизации планшета для иммуноферментного анализа нерастворимыми белковыми антигенами защищен патентом на изобретение № RU 2 732 013 C1, МПК G01N 33/569. Заявка 2019140904 11.12.2019 г. Опубликовано: 10.09.2020 г. Бюл. № 25.

Материалы диссертационной работы используются при подготовке кадров высшей квалификации (аспирантуре) по направлению 06.06.01 – Биологические науки, профиль 03.02.03 - микробиология и для слушателей курсов профессиональной переподготовки и повышения квалификации в рамках программы дополнительного профессионального образования «Микробиология. Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности» при чтении лекций и проведении практических занятий.

Апробация результатов.

Материалы диссертации представлены и обсуждены на семи Всероссийских и международных конференциях.

Автором исследования совместно с другими коллегами подготовлены методические рекомендации «Модельная система для исследования изменений, ассоциированных с адаптацией возбудителя чумы к организму млекопитающего» (утверждены директором ФБУН ГНЦПМБ 22.04.2020 г., протокол № 3); методические рекомендации «Подготовка и анализ препаратов белков из штаммов чумного микроба методом двумерного гель-электрофореза в неравновесном градиенте pH» (утверждены директором ФБУН ГНЦПМБ 22.04.2020 г., протокол № 3).

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 статьи в реферируемых научных журналах, один патент.

Автореферат написан в хорошем научном стиле, отличается четкостью и подробностью. Использование современных методов исследования и адекватный анализ полученных результатов позволили автору сделать ряд важных научных выводов и тем самым полностью выполнить поставленные перед собой задачи.

Замечаний по автореферату нет.

Ознакомление с работами автора, опубликованными в печати, и рецензирование автореферата диссертации Екатерины Александровны Красильниковой на тему «Поиск факторов избирательной вирулентности полевоочных штаммов *Yersinia pestis*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология, позволяют сделать вывод, что по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов и объему проведенных исследований работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями, утвержденными постановлениями Правительства Российской Федерации № 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, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Екатерина Александровна Красильникова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 — «Микробиология».

Заведующая лабораторией медицинской бактериологии
«Санкт-Петербургского научно-исследовательского института
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия человека
Мира ул., д. 14, Санкт-Петербург, 197101
тел. 7 (812) 498 09 39, 7 (904) 610 21 54,
E-mail: lykraeva@yandex.ru

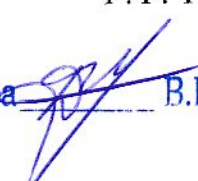
доктор медицинских наук по специальности
03.02.03 – микробиология Людмила Александровна Краева

Подпись Л.А. Краевой заверяю:

Ученый секретарь института, к.м.н.

Г.Ф. Трифонова

23 августа 2021 г.

Зам.директора  В.Г. Делков