

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Красильниковой Екатерины Александровны**
«Поиск факторов избирательной вирулентности
полевочьих штаммов *Yersinia pestis*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.03 – микробиология

Внутривидовая изменчивость *Y. pestis* привели к формированию широкого спектра внутривидовых групп чумного микроба, отличающихся по спектру чувствительных к ним млекопитающих и вирулентности. Возбудитель чумы способен циркулировать в популяциях более 200 видов диких грызунов, а передача патогена между животными осуществляется не менее чем 80 видами блох. В настоящее время нет единого мнения о возможных причинах избирательной вирулентности штаммов *Y. pestis*. Феномен, скорее всего, связан с отсутствием или структурно-функциональной модификацией генов одного или нескольких факторов патогенности у условно-патогенных («полевочьих») штаммов. На сегодняшний день установлены отличия патогенных («классических») и «полевочьих» штаммов по структуре липополисахаридов, и ряда других факторов патогенности (LcrV, CafI, Pla, OmpF). Сравнительный анализ вирулентных и авирулентных штаммов на уровне геномов, транскриптомов и (или) протеомов может способствовать получению новых знаний о молекулярных механизмах патогенеза чумы, поиску новых потенциальных молекулярных мишеней *Y. pestis* для этиотропного лечения, вакцинопрофилактики и иммунотерапии. Учитывая сказанное, **актуальность исследования** Е.А. Красильниковой не вызывает сомнений.

Целью диссертационного исследования является: поиск факторов избирательной вирулентности полевочьих штаммов *Yersinia pestis*.

Поставленные автором **четыре задачи** адекватны и достаточны для достижения цели исследования. Задачи исследования раскрыты в основных положениях, выносимых на защиту, и выводах.

Автореферат диссертационной работы построен по традиционной схеме и включает все необходимые разделы. В автореферате четко показаны степень разработанности темы, научная новизна, практическая значимость работы, перспективы дальнейшей разработки темы.

Как следует из анализа данных, представленных в автореферате, в ходе исследования автором получены новые данные о пяти белках (WP_050548832.1, EIR69411.1, WP_002209962.1, WP_038931127.1, WP_016599821.1), экспрессия которых увеличивалась у высоковирулентных для морских свинок субкультур штаммов *Y. pestis* subsp. *microti*, выращенных *in vivo*. Кроме того, у вирулентных для морских свинок культур, выращенных *in vivo*, отметили увеличение в 5-7 раз продукции капсульного антигена CafI и прекращение продукции пестицина Pst. Впервые показано, что мутация по гену *htpG* не влияет на вирулентность штаммов *Y. pestis* основного подвида и

bv. ulegeica для мышей и морских свинок. Впервые получены экспериментальные доказательства отсутствия влияния одиночной нокаутной мутации по гену *glnA* на вирулентность штаммов *Y. pestis* основного подвида для мышей и морских свинок. Показано, что для аттенуации в отношении двух видов животных требуется генетический нокаут всего *glnALG* оперона. Впервые установлено, что Δ *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.

Высокой оценки заслуживают **теоретическая и практическая значимость** работы. Диссертантом определены молекулярные отличия «полевых» штаммов *Y. pestis* с различной степенью избирательной вирулентности, что расширяет представления о механизмах патогенеза инфекций бактериальной этиологии и микроэволюции их возбудителей. Разработаны приемы культивирования вирулентных штаммов чумного микроба в перитонеальной полости морских свинок с использованием камер из диализной мембраны. На основании результатов исследования подготовлены методические рекомендации «Модельная система для исследования изменений, ассоциированных с адаптацией возбудителя чумы к организму млекопитающего», «Подготовка и анализ препаратов белков из штаммов чумного микроба методом двумерного гель-электрофореза в неравновесном градиенте pH». Депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» штаммы *Y. pestis* subsp. *pestis* bv. *orientalis* EV НИИЭГ Δ *glnALG::cat*, EV НИИЭГ Δ *glnA::cat*, EV НИИЭГ Δ *htpG::cat* и EV НИИЭГ Δ *metQ::kan*, дефектные по синтезу глутаминсинтетазы и продуктов двухкомпонентной системы регуляции глутамина, глутаминсинтетазы, белка теплового шока и субстрат-связывающей единицы ABC-транспортера метионина, соответственно, и штаммы *Escherichia coli* BL21(DE3)/pET32b-Fba-His6, *E. coli* BL21(DE3)/pET32b-HtpG-His6, *E. coli* BL21(DE3)/pET32b-MetQ-His6, *E. coli* BL21(DE3)/pET32b-GlnA-His6 – продуценты рекомбинантных белков Fba, HtpG, MetQ и GlnA, соответственно (федеральный уровень внедрения).

Достоверность результатов исследования обусловлена значительным объемом экспериментальных данных, полученных с применением сертифицированного оборудования и использованием методов, соответствующих современным требованиям и стандартам.

Выводы диссертации аргументированы, соответствуют поставленной цели, задачам исследования и полностью отражают суть выполненной работы.

Объем проведенных исследований и высокий методический уровень диссертационной работы дают основание считать работу завершенной. Цель исследования полностью достигнута.

