

УТВЕРЖДАЮ:

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, д-р биол. наук,
профессор



 И.Г. Шемякин

«24» мая 2021 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 «Поиск факторов избирательной вирулентности полевоочных штаммов *Yersinia pestis*» выполнена в лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций 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.

В период подготовки диссертации соискатель Красильникова Екатерина Александровна работала 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 лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций, в должностях лаборанта-исследователя и младшего научного сотрудника.

В 2016 г. Красильникова Е.А. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Микробиология». В 2016-2020 гг. проходила обучение в аспирантуре 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 по специальности 03.02.03 - микробиология, в 2020 г. получен диплом об окончании аспирантуры.

Научный руководитель: доктор медицинских наук Дентовская Светлана Владимировна, 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, лаборатория микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций, главный научный сотрудник.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

В последние десятилетия, в связи со стремительным развитием молекулярно-генетических методов и использованием системных подходов к изучению возбудителей особо опасных инфекций, был достигнут значительный прогресс в понимании биологии чумного микроба и патогенеза чумы. Несмотря на множество публикаций, связанных с факторами патогенности «универсально» вирулентных штаммов *Yersinia pestis* subsp. *pestis*, изучению феномена «избирательной» вирулентности штаммов *Y. pestis* subsp. *microti* уделено мало внимания.

Диссертационная работа Красильниковой Е.А. является завершенной научно-квалификационной работой, в которой представлены новые данные о молекулярных различиях штаммов *Y. pestis* subsp. *microti*, обладающих вирулентностью только для некоторых видов мышевидных грызунов.

Диссертационная работа Красильниковой Е.А. по своей актуальности, научной и практической значимости, новизне полученных результатов соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 г. № 335, от 02.06.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертационная работа соответствует отрасли науки «Биологические науки» и паспорту специальности 03.02.03 – «Микробиология» в областях исследований по пунктам 3 – «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов», 4 – «Исследование микроорганизмов на популяционном уровне», 5 – «Обмен веществ микроорганизмов».

Личное участие автора в выполнении диссертационного исследования заключалось в анализе научной литературы, в планировании экспериментов, в выполнении микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических, биологических экспериментов, анализе полученных результатов, в подготовке публикаций, в представлении устных и стендовых докладов на конференциях. Отдельные разделы работы выполнены совместно с д.м.н. С.В. Дентовской, к.б.н. П.Х. Копыловым, к.б.н. Ивановым, к.б.н. М.Е. Платоновым, к.б.н. Комбаров Т.И., к.б.н. Светоч Т.Э., к.б.н. Шайхутдиновой Р.З. Масс-спектрометрическую идентификацию белков проводили совместно с сотрудниками ЗАО «Постгеномные и нанотехнологические инновации» (г. Москва).

Достоверность полученных результатов обусловлена использованием современных микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических,

иммунохимических, биоинформационных методов, позволяющих документально регистрировать изучаемые объекты и явления, достаточным объемом фактического материала и наличием соответствующих контролей, а также проведением статистического анализа и математического моделирования, воспроизводимостью результатов в разных условиях эксперимента, использованием на всех этапах работы сравнения авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике; установлением качественного совпадения авторских результатов с результатами, представленными в независимых опубликованных источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение являлось обоснованным.

Научная новизна проведенных исследований состоит в получении методом протеомного анализа новых знаний о белках, экспрессия которых увеличивалась у вирулентных для морских свинок субкультур штаммов *Y. pestis* subsp. *microti*, выращенных *in vivo* – в диализных камерах, имплантированных в полость брюшины морских свинок; установлении отсутствия влияния делеционной мутации по гену *htpG*, кодирующему синтез белка теплового шока HtpG, и одиночного нокаута гена *glnA*, кодирующего синтез глутаминсинтетазы, на вирулентность штаммов *Y. pestis* основного подвида для мышей и морских свинок, доказательстве того, что для аттенуации в отношении животных моделей требуется генетический нокаут трех генов локуса *glnALG*, установлении 100 %-ной протективности штамма *Y. pestis* 231Δ*glnALG* для мышей и морских свинок при последующем заражении вирулентным штаммом *Y. pestis*; доказательстве, что делеция гена *metQ*, кодирующего синтез субстрат-связывающей единицы ABC-транспортера метионина, ведет к аттенуации штамма *Y. pestis* основного подвида и для мышей, и для морских свинок, а его комплементация восстанавливает вирулентность чумного микроба для двух видов лабораторных животных, защите приоритета предложенного способа сенсibilизации планшета для иммуноферментного анализа нерастворимыми белковыми антигенами патентом РФ № 2019140904.

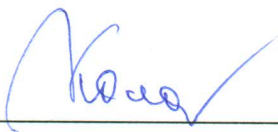
Практическая значимость работы заключается в обосновании возможности использования для дифференциации по степени вирулентности штаммов чумного микроба методического подхода, заключающегося в анимализации бактериальных культур путем последовательных тестикулярных пассажей; создании модельной системы для исследования физиологических изменений, ассоциированных с адаптацией возбудителя чумы к организму морских свинок; адаптации методики получения безопасных препаратов белков из вирулентных штаммов *Y. pestis*, пригодных после разделения путем двумерного электрофореза для дальнейшего масс-спектрометрического анализа; депонировании в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (п. Оболенск Московской обл.) четырех штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis*, дефектных по синтезу генов *glnA*, *glnALG*, *htpG*, *metQ*, и четырех штаммов-продуцентов рекомбинантных белков FbaA, HtpG, MetQ и GlnA чумного микроба (федеральный уровень внедрения); использовании материалов диссертационной работы при подготовке кадров высшей квалификации (аспирантуре) и для слушателей курсов профессиональной переподготовки и повышения квалификации ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора при чтении лекций и проведении практических занятий.

Материалы диссертации полностью изложены в 12 опубликованных соискателем научных работах по теме диссертации, включая 4 статьи в российских и зарубежных реферируемых научных журналах, 1 патенте и 7 тезисах в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

Диссертация «Поиск факторов избирательной вирулентности полевоочных штаммов *Yersinia pestis*» Екатерины Александровны Красильниковой рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

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. Присутствовало на заседании 28 чел. Результаты голосования: «за» - 28 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 57 от 29 апреля 2021 г.



доктор биологических наук

Коломбет Любовь Васильевна,

зав. научной частью, ученый секретарь
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