

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Кузнецовой Дарьи Александровны «Роль сидерофора иерсиниахелина в физиологии возбудителя чумы», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11 - микробиология (медицинские науки).

Актуальность исследования возбудителя чумы *Yersinia pestis* обусловлена высокой значимостью вызываемого им заболевания для здравоохранения России и сопредельных государств, на территории которых находятся активные природные очаги этой особо опасной инфекции. Высокая вирулентность возбудителя чумы вызвана комплексом факторов патогенности, одним из ведущих среди которых является способность получать доступ к ионам железа в условиях дефицита ключевых биометаллов в макроорганизме хозяина. Показано наличие нескольких систем поглощения железа у возбудителя чумы – Ybt, Yfe и Feo, которые в совокупности эффективно функционируют в различных органах хозяина и могут накапливать железо на разных стадиях заражения чумой (Perry et al., 2015; Chaaban et al., 2023). Диссертационное исследование Д.А. Кузнецовой посвящено исследованию еще одного, открытого ранее (Podladchikova et al., 2011; Rakin et al., 2012), но гораздо менее изученного сидерофора *Y. pestis* – иерсиниахелина. Актуальным является изучение роли этого сидерофора в жизнедеятельности и проявлении патогенных свойств возбудителя чумы. Диссертантом при исследовании 55 штаммов *Y. pestis* и 100 штаммов *Y. pseudotuberculosis* с помощью традиционных бактериологических и современных молекулярно-генетических, секвенационных и биоинформатических методов получены значимые результаты по характеристике сидерофора иерсиниахелина и его роли в физиологии клеток возбудителя чумы.

Впервые показана специфичность генов кодирующего иерсиниахелин *usi* локуса для *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, выявлены отличия в структуре терминаторов транскрипции у этих патогенных иерсиний. Установлено, что структура терминатора транскрипции *usi* локуса влияет на экспрессию иерсиниахелина. Впервые доказано, что сидерофор иерсиниахелин кодируется

функционально активными генами *ysu* локуса бактерий *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*. С помощью сконструированных рекомбинантных плазмид, содержащих гены биосинтеза иерсиниахелина (pSC-A-KIM, pSC-A-YPIII, pSC-A-5EV), показана экспрессия этого сидерофора в гетерологичном хозяине *E. coli* H1884ΔentDF, у которого отсутствуют собственные сидерофоры (Патент № 2670949 от 25.10.2018 г.). Установлено участие иерсиниахелина в ассимиляции железа и защите бактерий от токсического действия реактивных форм кислорода. С помощью изогенных вариантов штамма *Y. pestis* EV76 с отличиями в продукции иерсиниахелина установлено, что при температуре 26 °С в условиях дефицита железа иерсиниахелин секретируется в окружающую среду, способствуя усвоению железа бактериями, в то время как при температуре 37 °С он остается внутри клеток, защищая их от бактерицидного действия реактивных соединений кислорода. На модели лабораторных животных выявлено новое для сидерофоров свойство – способность вызывать образование геморрагий в организме хозяина.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о роли сидерофоров в жизнедеятельности и патогенности возбудителей инфекционных болезней. Практическая направленность результатов обусловлена конструированием трех рекомбинантных плазмид с генами биосинтеза иерсиниахелина и созданием генно-инженерных штаммов, содержащих эти плазмиды. Оба штамма депонированы в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора и могут быть использованы с целью дальнейшего изучения функциональных свойств иерсиниахелина в бактериях чумного микроба. Сконструирован комплект праймеров для проведения дифференциации штаммов *Y. pseudotuberculosis* на четыре геногруппы, включая связанные со вспышками псевдотуберкулеза на территории России. Разработана и зарегистрирована компьютерная программа «SiderophoreAnalyzer – программа для выявления генов, отвечающих за синтез сидерофоров, в полногеномных нуклеотидных последовательностях энтеробактерий» (свидетельство о регистрации от 03.11.2022 г.). Программа используется в оперативной работе ФКУЗ Иркутский

научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (акт внедрения от 10.10.2024 г.) и ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» (акт внедрения от 10.10.2024 г.).

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне с применением современных микробиологических, молекулярно-генетических, секвенационных, генно-инженерных и биоинформатических методов.

Материалы диссертации включены в программу курсов профессиональной переподготовки для врачей и биологов «Бактериология. Основы безопасной работы с ПБА I-II групп патогенности» и циклов повышения квалификации «Природно-очаговые и другие опасные зоонозные инфекционные болезни», «Выявление и типирование возбудителей инфекционных болезней с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР)» (акт внедрения от 25.09.2024 г.) на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Полученные в диссертационной работе результаты широко представлены на конференциях всероссийского и международного уровней. Результаты исследований опубликованы в 11 научных работах, из них 3 в рецензируемых научных изданиях, 2 – в других изданиях и 4 в материалах конференций (тезисы), 1 патент на изобретение, 1 программа для ЭВМ.

Автореферат оформлен в соответствии с общепринятыми требованиями и отражает основное содержание диссертации.

Заключение

Диссертация Кузнецовой Дарьи Александровны на тему «Роль сидерофора иерсиниахелина в физиологии возбудителя чумы», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология, выполненная под руководством кандидата химических наук Подладчиковой Ольги Николаевны, является законченным научным трудом, в котором решена важная научная проблема – определение роли сидерофора иерсиниахелина в обеспечении жизнедеятельности и вирулентности *Yersinia pestis*.

По актуальности, новизне и практической значимости диссертационная работа Кузнецовой Дарьи Александровны отвечает требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного Постановлениями Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в соответствии с Постановлениями Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 26.05.2020 г. № 751, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786, от 25.01.2024 г. № 62, от 16.10.2024 г. № 1382 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Кузнецова Дарья Александровна, заслуживает присуждения степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.11. – микробиология (медицинские науки).

Главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Федерального казенного учреждения науки Российский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес: 410005, Российская Федерация, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46, тел.: +7 (8452) 26-21-31, e-mail: geroshenko@yandex.ru

доктор биологических наук

Галина Александровна Ерошенко

« 19 » сентября 20 26 г.

Подпись Ерошенко Галины Александровны заверяю:

Ученый секретарь Федерального казенного учреждения науки Российский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

кандидат медицинских наук

Ольга Викторовна Кедрова

« 19 » января 20 26 г.

