

ОТЗЫВ

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

В последнее время активное внимание привлекает изучение низкомолекулярных высокоаффинных хелаторов железа - сидерофоров. Сидерофоры, которые обнаружены у бактерий, грибов и млекопитающих, способны извлекать железо из нерастворимых неорганических соединений, а в организме хозяина - из комплексов с белками, выполняющими функцию неспецифической защиты млекопитающих от инфекций. Извлеченное железо сидерофоры доставляют клеткам с помощью специфичных для каждого сидерофора поверхностных белковых рецепторов, а также различных белковых транспортных систем, входящих в состав мембран. У патогенных бактерий сидерофоры играют важную роль в вирулентности, выполняя множество функций в организме хозяина, помимо обеспечения микробов железом и другими биологическими металлами. Они участвуют в хранении токсичного для клеток избытка железа, защищают бактерии от реактивных соединений кислорода, конкурируют за железо с фагоцитами, оказывают токсическое действие на клетки хозяина, в некоторых случаях играя роль секретируемого бактериального токсина. Сидерофоры бактерий выполняют сигнальную функцию и регулируют как свой собственный синтез, так и синтез других факторов вирулентности.

Многие патогенные бактерии продуцируют несколько сидерофоров, активных в разных условиях, в отношении разных источников железа в организме хозяина и на разных этапах инфекционного процесса. Особое внимание привлекают сидерофоры бактерий, вызывающих особо опасные инфекции. С учетом этого настоящее исследование Кузнецовой Д.А., посвященное изучению сидерофора иерсиниахелина, обнаруженного у возбудителя чумы *Yersinia pestis*, является актуальным.

Научная новизна диссертационной работы. Автором в результате проведенных исследований проведен детальный сравнительный анализ генетических детерминантов сидерофора иерсиниахелина, расположенных в хромосомном *ysu* локусе, показана их специфичность для бактерий *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* и выявлены структурные отличия в терминаторах транскрипции оперонов, отвечающих за биосинтез иерсиниахелина у разных штаммов двух видов иерсиний. На основе нуклеотидных последовательностей генов *ysu* локуса предложены праймеры, позволяющие проводить внутривидовую дифференциацию штаммов *Y. pseudotuberculosis* методом ПЦР *in silico* и *in vitro*.

С помощью методов молекулярного клонирования автором доказано, что сидерофор иерсиниахелин кодируется функционально активными генами *ysu* локуса бактерий *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*. Сконструированы три

рекомбинантные плазмиды, содержащие гены биосинтеза иерсиниахелина, и с их помощью продемонстрирована экспрессия этого сидерофора в гетерологичном хозяине *E. coli* H1884*ΔentDF*, не синтезирующем собственные сидерофоры (Патент № 2670949 от 25.10.2018 г.).

Проведен анализ функциональной активности иерсиниахелина в бактериях чумного микроба путем сравнения трех вариантов вакцинного штамма *Y. pestis* EV76, различающихся по продукции иерсиниахелина: родительского штамма *Y. pestis* EV76, его мутанта, не продуцирующего этот сидерофор, а также мутанта, комплементированного рекомбинантной плазмидой pSC-A-5EV, содержащей гены биосинтеза иерсиниахелина. Результаты исследования демонстрируют участие иерсиниахелина в процессах ассимиляции железа и защите бактерий от токсического воздействия реактивных форм кислорода. При температуре 26°C в условиях дефицита железа иерсиниахелин секретируется в окружающую среду, способствуя усвоению железа бактериальными клетками. При повышении температуры до 37°C иерсиниахелин локализуется внутри клеток, защищая их от бактерицидного действия реактивных соединений кислорода.

Важно отметить, что в ходе исследования у иерсиниахелина было обнаружено уникальное свойство - способность стимулировать развитие геморрагий в организме хозяина. Такая особенность не наблюдалась у других известных сидерофоров.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенное исследование углубляет понимание роли бактериальных сидерофоров, в частности иерсиниахелина, в патогенезе чумы и псевдотуберкулеза.

Сконструированная плазида pSC-A-5EV, содержащая гены биосинтеза иерсиниахелина из штамма *Y. pestis* EV76, может быть использована для получения чистых препаратов иерсиниахелина из рекомбинантных штаммов. Это позволит провести детальное исследование структуры и физико-химических свойств данного сидерофора.

Предложенные в работе праймеры, позволяющие проводить внутривидовую дифференциацию штаммов *Y. pseudotuberculosis*, могут быть использованы в эпидемиологическом надзоре для отслеживания популяционной структуры возбудителя псевдотуберкулеза на территории Российской Федерации.

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.).

Материалы диссертации используются в педагогическом процессе в отделе профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в программе профессиональной переподготовки и циклах повышения квалификации.

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 (медицинские науки), выполненная под руководством кандидата химических наук Подладчиковой Ольги Николаевны, является завершенной научно-квалификационной работой, которая направлена на решение важной научной задачи - характеристика сидерофора иерсиниохелина *Y. pestis* как нового потенциального фактора вирулентности возбудителя чумы: выяснение его функциональной активности, специфичности для иерсиний и роли в патогенезе чумы.

Выводы диссертационной работы аргументированы, отражают полученные результаты и свидетельствуют о решении поставленных задач исследования.

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).

Заведующий отделом подготовки и усовершенствования специалистов Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский Ордена Трудового Красного знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Адрес: 664047, Российская Федерация, г. Иркутск, ул. Трилиссера, д. 78, тел.: +7 (3952) 22-01-39, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

доктор медицинских наук

Татьяна Юрьевна Загоскина

« 19 » декабря 20 25 г.

Подпись Загоскиной Татьяны Юрьевны заверяю:

Ученый секретарь Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский Ордена трудового красного знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



Валентина Юрьевна Колесникова

« 19 » декабря 20 25 г.