

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.078.02 НА
БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО КАЗЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ
«МИКРОБ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ
ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело N _____
решение диссертационного совета от 25 мая 2017 г. N 10

О присуждении Носову Никите Юрьевичу, гр. России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Филогенетический анализ и дифференциация штаммов *Yersinia pestis*» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 23 марта 2017 г., протокол N 3 диссертационным советом Д 208.078.02 на базе Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46. Создан Приказом Минобрнауки России № 903/нк от 6 августа 2015 г.

Соискатель Носов Никита Юрьевич 1989 года рождения,

В 2012 году соискатель окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации.

Работает младшим научным сотрудником в Федеральном казенном учреждении здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии в Федеральном казенном учреждении здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия

человека.

Научный руководитель: Ерошенко Галина Александровна, доктор биологических наук, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория молекулярной микробиологии, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Кацы Елена Ильинична, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов» Российской академии наук, лаборатория генетики микроорганизмов, заведующая лабораторией; Липницкий Анатолий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория особо опасных микозов, главный научный сотрудник дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, город Ставрополь, в своем положительном заключении, подписанном Еременко Евгением Ивановичем, доктором медицинских наук, профессором, лаборатория сибирской язвы, главный научный сотрудник и Таран Татьяной Викторовной, лаборатория подготовки специалистов, заведующая лабораторией, указала, что работа Носова Н.Ю. является вполне актуальной; результаты диссертационного исследования, выводы и рекомендации характеризуются существенной новизной; полученные знания открывают перспективу для исследования направлений эволюции штаммов *Y. pestis*

средневекового биовара и преобразований их генома, связанных с адаптацией к существованию в условиях различных биоценозов природных очагов чумы в ландшафтах степей, полупустынь и пустынь, исторических путей формирования современных границ распространения штаммов средневекового биовара. В качестве замечания можно отметить, что для большей объективности сравнения дискриминирующих возможностей предлагаемых схем генотипирования можно было бы привести индекс разнообразия Хантера-Гастона HGDI для каждой из них. По тексту встречаются некоторые опечатки. Эти замечания не умаляют достоинства работы. Диссертация Носова Н.Ю. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 11 работ, из них опубликованных в рецензируемых научных изданиях 4 работы.

Авторский вклад составляет 60%, объем научных изданий 2,7 п.л.

1. Ерошенко, Г.А. Совершенствование подвидовой классификации *Yersinia pestis* на основе данных полногеномного секвенирования штаммов из России и сопредельных государств / Г.А. Ерошенко, Я.М. Краснов, **Н.Ю. Носов**, Л.М. Куклева, К.А. Никифоров, Е.Г. Оглодин, В.В. Кутырев // Проблемы особо опасных инфекций. - 2015. – Вып. 4 - С. 58-64. **(из Перечня ВАК)**

2. Куклева, Л.М. Анализ разнообразия и определение геновариантов штаммов возбудителя чумы из очагов Монголии / Л.М. Куклева, Н.Ю. Шавина, Г.Н. Одинокоев, Е.Г. Оглодин, **Н.Ю. Носов**, Н.А. Виноградова, Н.П. Гусева, Г.А. Ерошенко, В.В. Кутырев // Генетика. - 2015. – Вып. 3 (51) - С. 298-305. **(из Перечня ВАК)**

3. **Носов, Н.Ю.** Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы Российской Федерации и сопредельных стран / Н.Ю. Носов, Е.Г. Оглодин, Я.М. Краснов, Л.М. Куклева, Н.Ю. Шавина, Г.А. Ерошенко, В.В. Кутырев // Проблемы особо опасных инфекций. - 2016. – Вып. 2 - С. 75-78. **(из Перечня ВАК)**

На автореферат поступили отзывы: **Коннова Светлана Анатольевна**, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г.

Чернышевского» Минобрнауки России. Положительный, без замечаний.

Трухачев Алексей Леонидович, кандидат медицинских наук, ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, заведующий лабораторией микробиологии чумы и других иерсиниозов. Положительный, без замечаний. **Тетерин Владимир Валентинович**, кандидат биологических наук, ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России, начальник 1 научно-исследовательского отдела. Положительный, без замечаний. **Горяев Артем Анатольевич**, кандидат биологических наук, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, заместитель начальника управления экспертизы противобактериальных МИБП. Положительный, без замечаний. **Шестопалов Михаил Юрьевич**, кандидат медицинских наук, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, заведующий отделом микробиологии чумы. **Мека-Меченко Татьяна Владимировна**, доктор медицинских наук, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева, главный научный сотрудник лаборатории микробиологии и эпидемиологии чумы. Положительный, без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Е.И. Кацы известный специалист в области генетики и микробиологии бактерий, А.В. Липницкий – известный специалист в области микробиологии возбудителей особо опасных инфекционных болезней. В ведущей организации работает группа специалистов, известных своими исследованиями вопросов микробиологии возбудителя чумы, в том числе его индикации, дифференциации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- получены новые научные данные по популяционной структуре штаммов *Yersinia pestis* основного подвида средневекового биовара,

обогащающие современную концепцию глобальной филогении и генетического разнообразия возбудителя чумы;

- по результатам молекулярно-генетического анализа 87 штаммов средневекового биовара, включая полногеномное секвенирование 46 штаммов из природных очагов Российской Федерации и других стран СНГ – Казахстана, Узбекистана, Кыргызстана, Армении, Азербайджана, а также Грузии и Туркмении впервые установлена принадлежность этих штаммов к филогенетической линии 2.MED1 средневекового биовара. В составе филогенетической линии 2.MED1 выявлено наличие двух основных ветвей: Кавказско-Каспийской и Среднеазиатско-Китайской, соответствующих регионам распространения штаммов средневекового биовара;

- разработаны оригинальные способы ПЦР и SNP типирования штаммов *Y. pestis* средневекового биовара по их принадлежности к филогенетическим ветвям 2.MED1, 2.MED2 и 2.MED3 и различным природным очагам чумы;

- предложена усовершенствованная подвидовая классификация возбудителя чумы с выделением новых подвидов – тибетского, ангольского и центральноазиатского, построенная на анализе мировой популяционной структуры штаммов *Y. pestis* с учетом штаммов из очагов стран СНГ и ближнего зарубежья (всего 263 штамма).

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что расширены представления о генетическом разнообразии возбудителя чумы на основе молекулярно-генетического анализа и полногеномного секвенирования штаммов *Y. pestis* из очагов чумы Российской Федерации и сопредельных государств, установлена современная популяционная структура штаммов основного подвида средневекового биовара и границы распространения штаммов филогенетических ветвей 2.MED0, 2.MED1, 2.MED2, 2.MED3 на территории Евразийского континента. Полученные данные о молекулярно-генетических особенностях штаммов *Y. pestis* средневекового биовара открывают перспективы для выявления закономерностей эволюционных преобразований их генома в процессе адаптации к существованию в

биоценозах природных очагов чумы с различными географическими ландшафтами и изучению исторических путей формирования современных границ ареала распространения. Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс базовых микробиологических, биохимических и молекулярно-генетических методов. Установлено, что штаммы средневекового биовара широко распространены в очагах чумы стран СНГ и ближнего зарубежья – в РФ, Казахстане, Кыргызстане, Туркмении, Узбекистане и странах Кавказского региона, а также встречаются в очагах Монголии и Индии. Проведен сравнительный молекулярно-генетический анализ штаммов *Y. pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы России и других стран. На основе найденных в геномах штаммов средневекового биовара различий – делеций в 33 т.п.н. и 73 п.н., маркерных для разных филогенетических ветвей, впервые разработан способ дифференциации штаммов этого биовара, принадлежащих к ветвям 2.MED1, 2.MED2 и 2.MED3, методом ПЦР. Разработан способ определения принадлежности штаммов *Y. pestis* средневекового биовара к природным очагам чумы в Российской Федерации - Центрально-Кавказскому высокогорному, Терско-Сунженскому низкогорному, Волго-Уральскому песчаному, Волго-Уральскому степному, Прикаспийскому песчаному, с помощью метода SNP-типирования. На основе выбора биоинформационных методов и компьютерных программ разработан эффективный алгоритм биоинформационного анализа полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* с применением программ Wombac 2.0, PAUP 4.0, PhyML 3.1 (Maximum Likelihood), FigTree 1.4.3, повышающий точность филогенетического анализа и обеспечивший получение новых данных о генетических связях штаммов средневекового биовара из природных очагов чумы в России и других странах СНГ. Получены MLVA25 генотипы штаммов *Y. pestis* из 10 очагов РФ и 22 очагов других стран СНГ и ближнего зарубежья.

Значение полученных соискателем результатов исследования для

практики подтверждается тем, что выполнено полногеномное секвенирование 46 штаммов *Y. pestis* средневекового биовара и получены полногеномные последовательности средневековых штаммов, референтные для 7 очагов чумы в России и 16 очагов стран СНГ и ближнего зарубежья, наличие которых повышает эффективность мониторинга возбудителя чумы на очаговых территориях. Полногеномные последовательности двенадцати штаммов средневекового биовара из очагов России и других стран СНГ депонированы в международной базе данных NCBI GenBank. Разработан эффективный алгоритм определения подвидовой, биоварной и очаговой принадлежности штаммов *Y. pestis* методом мультилокусного анализа переменного числа tandemных повторов с применением программ MEGA 7.0, PhyML 3.1 и BioNumerics 7.6. В программе BioNumerics 7.6 создана база данных MLVA25 генотипов, позволяющая устанавливать очаговую принадлежность исследуемых штаммов возбудителя чумы. На основании полученных данных составлены и утверждены методические рекомендации: «Определение подвидовой, биоварной и очаговой принадлежности штаммов *Yersinia pestis* из природных очагов России и сопредельных стран СНГ методом MLVA25 анализа» и «Алгоритм построения филогенетических деревьев штаммов *Yersinia pestis* по данным полногеномного SNP анализа». Утверждены директором института в 2016 г.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что все экспериментальные результаты получены на сертифицированном и прошедшем метрологическую проверку оборудовании. Показана воспроизводимость результатов в различных условиях экспериментов. Сделанные выводы базируются на обобщении собственных данных в сравнении с данными, полученными по тематике диссертационного исследования отечественными и зарубежными исследователями. В работе использованы современные методы получения и анализа экспериментальной информации с применением современных технологий микробиологии, молекулярной генетики и биоинформатики. Все экспериментальные данные

получены в повторяющихся экспериментах. Результаты диссертации получены на выборке из 142 штаммов *Y. pestis*, представляющих все мировое разнообразие возбудителя чумы.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в получении экспериментальных данных и в научных экспериментах, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке основных публикаций по выполненной работе. Соискатель также лично участвовал в апробации полученных результатов на Международных, Российских и ежегодных научно-практических конференциях ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

Диссертационная работа является научным исследованием, решающим основные задачи поставленной научной проблемы. Полученные экспериментальные данные и выводы изложены последовательно в соответствии с критериями внутреннего единства проведенного исследования.

Полученные в диссертационном исследовании результаты создают основу для усовершенствования лабораторной диагностики и молекулярного типирования возбудителя чумы в целях повышения эффективности эпидемиологического мониторинга чумы в природных очагах Российской Федерации и сопредельных стран.

Диссертация Носова Н.Ю. является научно-квалификационным исследованием, которое по основному содержанию соответствует пунктам 9, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ 24.09.2013 г. №842 с дополнениями, содержащимися в Постановлении Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335.

На заседании 25 мая 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Носову Н.Ю. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 29

человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 23, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель диссертационного совета

Ученый секретарь
диссертационного совета

30 мая 2017 г.



Кутырев В.В.

Слудский А.А.