

ОТЗЫВ

научного руководителя по диссертационной работе

Макашовой Марина Александровны на тему:

«Анализ взаимодействия *Yersinia pestis* с почвенной микрофауной Горно-Алтайского высокогорного очага чумы», представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.11 – микробиология

Диссертационная работа Макашовой Марины Александровны выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии Федерального казенного учреждения науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в соответствии с плановой тематикой НИР.

Актуальность выполненного исследования обусловлена тем, что чума по-прежнему представляет угрозу в области здравоохранения, что обусловлено высокой вирулентностью возбудителя, широким распространением природных очагов и сохранением напряженной ситуации по чуме на ряде территорий. Одним из наиболее важных направлений исследований этиологического агента чумы, *Yersinia pestis*, является изучение особенностей экологии и механизмов сохранения во время межэпизоотических периодов в очагах чумы. В соответствии с классическими представлениями о природной очаговости возбудитель чумы сохраняется, циркулируя между носителями и переносчиками, в то же время классическая схема трансмиссии не может объяснить персистенцию *Y. pestis* в течение длительных межэпизоотических периодов. Это позволяет предположить наличие других природных резервуаров возбудителя, наиболее вероятным из которых являются доминирующие члены почвенных биоценозов природных очагов чумы. В связи с этим актуальным является изучение взаимодействий *Y. pestis* с представителями почвенной микрофауны из одного биоценоза эпизоотически активных в настоящее время очагов чумы. Одним из них является Горно-Алтайский высокогорный очаг, в котором циркулируют эпидемически значимые и высоковирулентные штаммы *Y. pestis* основного подвида античного биовара филогенетической линии 4.ANT.

Диссертационное исследование Макашовой М.А. посвящено изучению комплексной характеристики свойств и взаимодействия штаммов *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT с почвенной микрофауной Горно-Алтайского высокогорного очага чумы. В работе приведен обзор современных данных литературы о генетическом разнообразии и географическом распространении штаммов *Y. pestis*, классические и современные представления о механизмах энзоотии чумы в природных очагах. При выполнении диссертационной работы использованы как традиционные микробиологические, так и современные молекулярно-генетические и биоинформатические методы.

М.А. Макашовой установлено, что штаммы *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT античного биовара основного подвида, как и штаммы других линий эволюции этого биовара, зависят от присутствия в среде аминокислот фенилаланина, метионина и треонина, но отличаются от них вариабельностью зависимости от цистеина, тогда как штаммы других филогенетических линий нуждаются дополнительно в лейцине и пролине. С помощью сравнительного анализа полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* античного биовара в 14 генах метаболических путей серы и цистеина выявлено 19 мутаций, при том, что для большинства эволюционных линий характерен свой мутационный профиль этих генов. В почвах нор грызунов Горно-Алтайского высокогорного очага чумы при анализе последовательной генов рибосомальных РНК установлено присутствие простейших *Acanthamoeba castellanii* и *Dictyostelium sphaerocephalum*, свободноживущих нематоды рода *Panagrolaimus* и семейства Diplogasteroidea. При изучении взаимодействий *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT с почвенной микрофауной, выделенной из Горно-Алтайского высокогорного очага, в условиях эксперимента установлена способность возбудителя чумы сохраняться в ассоциации с амебами *A. castellanii* в отсутствие питательных веществ в течении 22 месяцев без изменения свойств и потери вирулентности. Кроме того, *Y. pestis* филогенетической линии 4.ANT способен формировать биопленку на кутикуле почвенных нематод *Panagrolaimus sp.*, образовывать конгломераты клеток в их пищеварительном тракте, не оказывая значимого влияния на продолжительность жизни нематод. В процессе изучения спектра нематод, паразитирующих в блохах *Citellophilus tesquorum* и *Frontopsylla elatoides* в Тувинском горном очаге чумы, при сравнении последовательностей рибосомальных генов установлена систематическая принадлежность энтомопаразитических нематод к роду *Rubzovinema*. На основе анализа генов 16S рибосомальной РНК и гена домашнего хозяйства *recA* охарактеризована микробиота паразитарной системы нематода-блоха из Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного очагов чумы, включающая представителей α -протеобактерий, γ -протеобактерий и актиномицетов родов *Cutibacterium*, *Pseudomonas*, *Brevundimonas*, *Wolbachia*.

Материалы диссертации были представлены на 15 всероссийских и международных научно-практических конференциях. По материалам исследования опубликовано 14 печатных работ, включая 1 патент на изобретение, 4 статьи в периодических изданиях из «Перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России», из которых 3 статьи опубликованы в журнале, индексируемом в МБД Scopus. Разработаны и утверждены методические рекомендации учрежденческого уровня по получению рекомбинантных биолюминесцентных штаммов *Y. pestis* и *Escherichia coli*. В международной базе данных NCBI GenBank депонированы 29 нуклеотидных последовательностей генов рибосомальных РНК простейших и нематод.


Актуальность выполненной диссертационной работы, ее научная новизна, теоретическая и практическая значимость не вызывают сомнения. Все выводы аргумен-

тированы и достоверны. В работе Макашовой М.А. представлены результаты развернутых исследований фенотипических и генетических свойств и филогенетической принадлежности большого числа штаммов *Y. pestis* из различных природных очагов чумы мира, установлена систематическая принадлежность почвенных простейших и получены новые данные о взаимодействиях *Y. pestis* с почвенной микрофауной, что подтверждает соответствие диссертационного исследования специальности 1.5.11 – микробиология.


Диссертационная работа выполнена на современном методическом уровне с применением современных технологий (секвенирование, методы геномной инженерии), а также традиционных методов микробиологии. Хороший уровень профессиональной подготовки, трудолюбие, целеустремленность, заинтересованность в проведении научных экспериментов и аккуратность в работе позволили Макашовой М.А. получить большое количество новых интересных данных, обеспечивших решение поставленных теоретических и практических задач и достижение цели диссертационного исследования.

Считаю, что диссертационная работа Макашовой М.А. является законченным экспериментальным исследованием, которое соответствует требованиям «Положений о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Российской Федерации, и может быть представлена к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11 – микробиология.

Научный руководитель,
главный научный сотрудник лаборатории
молекулярной микробиологии
ФКУН Российский противочумный
институт «Микроб» Роспотребнадзора
д.б.н., старший научный сотрудник


/ Г.А. Ерошенко /

Подпись Г.А. Ерошенко заверяю
ученый секретарь
ФКУН Российский противочумный
институт «Микроб» Роспотребнадзора


/ О.В. Кедрова /

Федеральное казенное учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора). 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46.

Тел. (8452) 26-21-31, факс (8452) 51-52-12. E-mail: rusrapi@microbe.ru.