

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на диссертацию н.с. лаборатории биологии вирусов бактерий Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» Олеси Андреевны Казанцевой по теме «Молекулярно-генетическая и физиологическая характеристика новых умеренных и вирулентных вирусов бактерий, инфицирующих представителей группы *Bacillus cereus sensu lato*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология.

Олеся Андреевна пришла в созданную в 2019 г. лабораторию биологии вирусов бактерий летом 2019 г. уже как опытный сотрудник, владеющий широким спектром методов в области молекулярной биологии и геномной инженерии. Придя в нашу лабораторию, она быстро освоила методы микробиологии и вирусологии, а также удачно интегрировала в лабораторную практику ранее освоенные ею методы. Благодаря опыту в области молекулярной биологии и геномной инженерии Олесе Андреевне удалось создать методики для экспериментального подтверждения корректности сборок геномов фагов, а также определять механизм упаковки ДНК бактериофагов.

В течение последних десяти лет бактериофаги вновь стали объектом пристального внимания исследователей. В большинстве случаев изучаются вирулентные фаги, способные инактивировать антибиотико-резистентные патогены группы ESKAPE. Для исследований в рамках диссертационной работы Олеси Андреевны были выбраны бактериофаги не менее важной группы видов микроорганизмов – *Bacillus cereus sensu lato*. Близкородственные микроорганизмы этой группы играют важную роль в различных экосистемах и эпидемиологических процессах как у насекомых, так и у млекопитающих. Микроорганизмы группы *B. cereus* находят применение в виде биоинсектицидов, удобрений и пробиотиков, однако, с другой стороны, входят в пятёрку лидеров этиологических агентов пищевых отравлений. Некоторые виды и штаммы способны вызывать разнообразные инфекционные заболевания, а вид *B. anthracis* вызывает сибирскую язву.

На момент начала диссертационной работы Олеси Андреевны было описано более сотни вирулентных и умеренных фагов, заражающие бактерии группы *B. cereus*. Однако доля бактериофагов, выделенных на территории России и СССР, была весьма малозначительна. Лишь для четырёх фагов были определены последовательности геномов, несмотря на бурное развитие и широкую доступность методов высокопроизводительного секвенирования в предыдущие 7-10 лет, а также успехи в области исследований и разработок бактериофагов, заражающих бактерии группы ESCAPE. Этот факт указал на недостаточное внимание, уделяемое в нашей стране исследованию многообразия, экологической роли и жизненных циклов фагов, заражающих бактерий группы *B. cereus* s.l. Таким образом, направление исследований в рамках диссертационной работы Олеси Андреевны является актуальным и своевременным.

За пять лет работы в лаборатории Олеся Андреевна охарактеризовала более 10 разных фагов, из которых для написания диссертации она выбрала 4, обладающих различными механизмами упаковки ДНК в капсид. Также эти бактериофаги являются основателями трёх новых таксонов: родов *Kirovirus*, *Samaravirus* и *Bunatrivirus* и соответствующих видов. Выявление новых крупных таксонов фагов *B. cereus* s.l. подчёркивает новизну и актуальность выбранной темы исследований.

Одной из особенностей диссертационной работы Олеси Андреевны является выявление бактериофага, обладающего малой субъединицей терминазы, которая содержит домен «FtsK_gamma». Наиболее изученными белками, содержащими домен «FtsK_gamma», являются белок FtsK, который отвечает за сегрегацию ДНК при делении бактериальных клеток, и SpoIIIE – отвечает за сегрегацию ДНК между материнской клеткой и преспорой. Сам домен «FtsK_gamma» распознает специфический сайт на бактериальной ДНК. Следовательно, обнаруженные у бактериофагов *Samaravirus samarensis* терминазы могут оказаться склонными к упаковке в капсиды ДНК бактериального хозяина, увеличивая вероятность её горизонтального переноса за счёт трансдукции.

По данным Всемирной организации здравоохранения бактериофаги и их компоненты занимают одну из лидирующих позиций в разработке антибактериальных средств против антибиотико-резистентных бактерий. Однако в настоящее время чёткие критерии для понимания пригодности изолятов фагов для фаготерапии отсутствуют. В рамках диссертационной работы Олеся Андреевна предложила 4 базовых критерия, основанных как на физиологических характеристиках фагов, так и на результатах анализа их полных геномов.

Ещё одной особенностью работы оказался Xwd-подобный белок, обнаруженный у фагов *Samaravirus samarensis*. Именно мутации в гене, кодирующем данный белок, позволяли формировать фагу прозрачные бляшки на газонах штамме VKM B-370, хотя изначально предполагалось, что фаги *Samaravirus samarensis* являются умеренными, а штаммы с прозрачными бляшками являются их вирулентными мутантами.

Стоит отметить, что работа представляет собой рукопись, содержащую 171 страницу и ссылки на 362 источника литературы, среди которых присутствуют как современные работы, так и давно известные работы, ставшие классикой среди исследователей бактериофагов. В работе можно найти незначительное количество орфографических ошибок. Также следует отметить путаницу с обозначением бактериофагов вида *Samaravirus samarensis* в различных главах диссертации. Тем не менее перечисленные выше замечания никак не умаляют высокую оценку данной работы.

Важным методическим достижением работы является нахождение относительно простого способа для картирования концов генома фагов – метод RAGE. Картирование концов геномов фагов позволяет установить механизм упаковки ДНК в капсид и в данной диссертационной работе Олеся Андреевна демонстрирует картирование концов хромосом фагов для трех наиболее распространенных механизмов упаковки на примерах фагов Kirov, vB_BcM_Sam46, B83. Детальное описание методов позволит использовать диссертационную работу Олеси Андреевны как удобное и подробное методическое руководство следующему поколению студентов и аспирантов.

Олеся Андреевна – необыкновенно продуктивный учёный: за пять лет работы в моей лаборатории опубликовала 10 статей, 8 из которых в журналах Q1/Q2, ещё несколько работ находятся на стадии подготовки. Олеся Андреевна отлично владеет английским и ключевые статьи с материалами, входящими в её диссертацию, написаны ею собственноручно. Помимо сборки геномов бактериофагов Олеся Андреевна в совершенстве освоила сборку бактериальных геномов, а также весь комплекс работ секвенирования на Oxford Nanopore: от пробоподготовки до гибридной сборки полных геномов.

Важно отметить, что работы, выполняемые Олесей Андреевной, часто заслуживают высокой оценки: трижды её статьи занимали призовые места на конкурсах молодых учёных межрегионального микробиологического сообщества (2021 г. – 1-ое место, 2022 г. – 2-ое место, 2023 г. – 2-ое место).

Олеся Андреевна самостоятельно представила результаты своей диссертационной работы на различных конференциях. Только в 2023 г. Олеся приняла очное участие в двух крупных конференциях в г. Минск (Беларусь) и г. Новосибирск (Академгородок), где сделала два секционных доклада. Олеся Андреевна всегда готова прийти на помощь другим сотрудникам и студентам в освоении новых методов, а также принимает активное участие в интерпретации и критической оценке результатов, представляемых на лабораторных семинарах и конференциях. Кроме того, Олеся Андреевна читает научно-популярные лекции: сотрудничала с фондом некоммерческих инициатив «Траектория» в качестве приглашенного лектора VII Астрофизической научно-образовательной школы Фонда некоммерческих инициатив «Траектория» для старших школьников (2019 г.), а также взаимодействует с межфакультетным научно-образовательным центром МГУ в г. Пушкино с 2016 г. по настоящее время. Олеся Андреевна проводит занятия по физико-химической биологии со школьниками (участниками и победителями зональных и международных школьных олимпиад) и преподавателями для повышения их квалификации. В 2021-2022 г. Олеся Андреевна руководила выпускной дипломной работой студента биотехнологического факультета МГУ, которая была защищена на «отлично». Опыт, накопленный под руководством Олеси Андреевны, позволил студенту поступить в Саарский университет (Universität des Saarlandes) в Германии. Благодаря своим профессиональным качествам Олеся Андреевна заслуживает полного доверия и поэтому замещает меня как руководителя лаборатории в период моего отсутствия.

В заключении следует отметить, что актуальность и научная новизна диссертационного исследования не вызывают сомнений. Научные положения чётко обоснованы и экспериментально доказаны.

Диссертационная работа Олеси Андреевны Казанцевой «Молекулярно-генетическая и физиологическая характеристика новых умеренных и вирулентных вирусов бактерий, инфицирующих представителей группы *Bacillus cereus sensu lato*» является самостоятельным завершённым научным исследованием, выполненным в соответствии с требованиями пунктов 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в ред. от 25.01.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Олеся Андреевна Казанцева, несомненно, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – Молекулярная Биология.

Научный руководитель,
Ведущий научный сотрудник
Кандидат биологических наук
лаборатории биологии вирусов бактерий
Института биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук –
обособленного подразделения Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр «Пушкинский
научный центр биологических исследований
Российской академии наук»
142290, Московская область, г. Пушкино, пр-кт Науки, 5
Телефон: +7 (977) 394-70-36
e-mail: andrey2010s@gmail.com

Шадрин Андрей Михайлович



Подпись _____
УДОСТОВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров ИБФМ РАН