

Директору Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Института  
органической химии им. Н. Д. Зелинского  
Российской академии наук, председателю  
Диссертационного совета 24.1.092.01  
Действительному члену РАН  
Егорову Михаилу Петровичу

Я, Львов Вячеслав Леонидович, к.х.н., заведующий лабораторией  
препаративной биохимии ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА,  
согласен быть официальным оппонентом диссертационной работы Науменко  
Олеси Игоревны на тему «**Капсульные полисахариды *Acinetobacter  
baumannii*: строение и расщепление деполимеразами  
бактериофагов**», представленной на соискание ученой степени кандидата  
химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия в  
диссертационный совет 24.1.092.01 при Федеральном государственном  
бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н. Д.  
Зелинского Российской академии наук».

Заведующий лабораторией  
препаративной биохимии  
ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА

к.х.н. В.Л. Львов



## Сведения об официальных оппонентах

**1. ФИО оппонента:** Львов Вячеслав Леонидович

**2. Ученая степень и наименование отрасли науки, по которым им защищена**

**диссертация:** к.х.н., 02.00.10 – биоорганическая химия

**3. Список публикаций оппонента:**

1. Ledov V.A., Golovina M.E., Markina A.A., Kovalchuk A.L., Aparin P.G. Highly homogenous triacylated S-LPS acts as a novel clinically applicable vaccine against *Shigella flexneri* 2a infection // *Vaccine*, 2019, 37(8), pp. 1062–1072
2. Dagil Y.A., Arbatsky N.P., Alkhazova B.I., Mazurov D.V., Pashenkov M.V. The dual NOD1/NOD2 agonism of mucopeptides containing a meso-diaminopimelic acid residue // *PLoS ONE*, 2016, 11(8),
3. L'vov V.L., Filatov A.V., Perepelov A.V., Chizhov A.O., Knirel Y.A. Solvolysis with trifluoroacetic acid: an efficient method for selective cleavage of polysaccharides // *Mendelev Communications*, 2016, 26(4), pp. 279–281
4. Ledov V.A., Golovina M.E., Luchina N.N., L'vov V.L., Aparin P.G. Immunogenicity and protective efficacy of lipopolysaccharides *shigella flexneri* 2a with chemically modified lipid A // *Immunologiya*, 2015, 36(2), pp. 99–104
5. Perepelov A.V., Filatov A.V., Wang Q., Wang L., Knirel Y.A. Structure elucidation and gene cluster annotation of the O-antigen of *Escherichia coli* O39; Application of anhydrous trifluoroacetic acid for selective cleavage of glycosidic linkages // *Carbohydrate Research*, 2014, 388(1), pp. 30–36
6. Perepelov A.V., Shekht M.E., Liu B., Wang L., Knirel Y.A. *Shigella flexneri* O-antigens revisited: Final elucidation of the O-acetylation profiles and a survey of the O-antigen structure diversity // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2012, 66(2), pp. 201–210
7. Дагиль Ю.А., Арбатский Н.П., Алхазова Б.И., Львов В.Л., Пашенков М.В. Структурные особенности селективных и неселективных агонистов под-рецепторов // *Медицинская иммунология*. 2017. Т. 19. № 6. С. 705-714.
8. Апарин П.Г., Львов В.Л., Книрель Ю.А., Шашков А.С., Николаева И.А. Способ получения комплексного шигеллезного препарата // Патент на изобретение RU 2614123 C1, 22.03.2017. Заявка № 2015141760 от 01.10.2015.
9. Степаненко Р.Н., Львов В.Л., Андреев И.В., Новикова Е.М., Козырева О.В., Разваляева Н.А., Мартынов А.И. В (1-6)- $\beta$ -глюкан из плодового тела гриба *lentinus edodes*: структура и иммунобиологические свойства // *Иммунология*. 2019. Т. 40. № 4. С. 13-22.
10. Попилюк С.Ф., Вернер И.К., Львов В.Л., Свитич О.А., Калужин О.В. Композиция



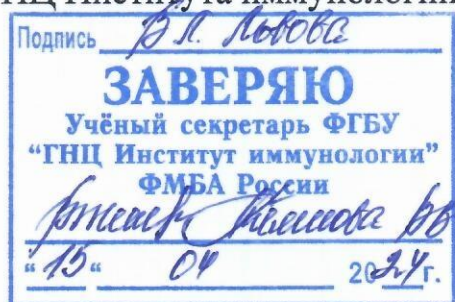
растворимых мономерных и олигомерных фрагментов пептидогликана клеточной стенки грамотрицательных бактерий, способы ее получения и применения // Патент на изобретение 2765270 С1, 27.01.2022. Заявка № 2020131974 от 28.09.2020.

**4. Полное наименование организации, являющееся основным местом работы на момент написания отзыва:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА

**5. Занимаемая должность:** заведующий лабораторией препаративной биохимии №54

Заведующий лабораторией препаративной биохимии  
ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА

к.х.н. В.Л. Львов



## ОТЗЫВ

на диссертационную работу **Касимовой Анастасии Алексеевны** «Капсульные полисахариды *Acinetobacter baumannii*: строение и расщепление деполимеразми бактериофагов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Диссертационная работа Касимовой А.А. посвящена изучению строения ранее неизученных капсульных полисахаридов (КПС) антибиотикоустойчивой патогенной грамотрицательной бактерии *A. baumannii*, а также анализу продуктов их расщепления при обработке фаговыми деполимеразми. КПС, локализованные вблизи от внешней поверхности клеточной стенки бактерий, являются одним из основных факторов вирулентности. Они образуют вокруг бактериальной клетки вязкий поверхностный слой (капсулу), защищающий ее от неблагоприятных условий внешней среды, действия антибиотиков, биоцидов и бактериофагов. Знание строения КПС, в ответ на появление которых организм хозяина отвечает индукцией специфических протективных антител, играет важную роль при создании препаратов для диагностики, вакцинопрофилактики и лечения заболеваний, вызываемых болезнетворными микроорганизмами

Результаты проведенного исследования имеют очевидное практическое значение: данные о строении главных полисахаридных антигенов *A. baumannii* могут быть использованы для создания химико-серологической схемы классификации этих микроорганизмов, а также для исследования механизмов биосинтеза КПС и разработки эффективных методов молекулярного типирования природных и клинических изолятов *A. baumannii*. В связи заметным расширением спектра антибиотикоустойчивости и возрастающего разнообразия циркулирующих внутри вида вариантов бактерий наряду со структурным анализом КПС не менее актуальным является поиск альтернативных способов борьбы с патогенными клиническими штаммами *A. baumannii*. Наиболее перспективным считается фаготерапия, в процессе которой литические бактериофаги разрушают капсульную оболочку микроорганизма, а затем инфицируют бактериальные клетки с их последующим лизисом. Вторая часть работы Касимовой А.А. посвящена изучению специфических процессов деполимеризации КПС под действием фаговых и профаговых деполимераз.

Работа выполнена на современном методическом уровне с рациональным сочетанием химических и спектральных методов анализа КПС и их олигосахаридных фрагментов. Для установления природы, конфигурации и взаимного расположения моносахаридов удачно использованы традиционные методы избирательного расщепления



(гидролиз, распад по Смиту), а для идентификации и локализации неуглеводных заместителей - модификация КПС (дезацетилирование, дезацеталирование). При установлении строения олигосахаридов, полученных в результате селективного химического распада и расщепления фаговыми деполимеразами, а также модифицированных КПС широко использована одномерная и двумерная ЯМР спектроскопия и масс-спектрометрия высокого разрешения.

В разделе «Обсуждение результатов» приведен анализ генетических данных биосинтеза КПС, который позволил не только подтвердить строение химического повторяющегося звена КПС, но позволил выяснить, остаток какого моносахарида первым принимает участие в его биосинтезе, т.е. однозначно установить строение биологического повторяющегося звена всех изученных в данной работе КПС *A. baumannii*.

Диссертационная работа Касимовой А.А. оформлена традиционным образом. Материал диссертации изложен на 240 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы и приложения с табулированными данными ЯМР спектров, полученных при выполнении работы. Библиографический список состоит из 246 наименований. Диссертация содержит 9 таблиц и 118 рисунков (в приложении содержится дополнительно ещё 19 таблиц).

Литературный обзор, направленно коррелирующий с экспериментальным материалом исследования, посвящен краткой биологической характеристике вида *A. baumannii*, описанию известных структур КПС, обсуждению механизмов взаимодействия бактериофагов с бактериальной клеткой и практическому использованию литических фагов в медицине, животноводстве и агрономии. Обзор занимает 40 страниц диссертации и охватывает 200 литературных источников. В разделе «Экспериментальная часть» приведена общая схема установления строения КПС *A. baumannii* и, для каждого КПС, подробное описание всех этапов структурного анализа. Используемые в работе методики грамотно описаны в разделе «Экспериментальная часть». Выводы работы соответствуют поставленным целям и основываются на результатах экспериментов.

К числу наиболее важных научно-практических достижений рецензируемой работы можно отнести следующие:

- 1) Установлено строение 25 новых типов КПС *Acinetobacter baumannii*. Полученные данные являются химической основой для классификации штаммов этих бактерий,

необходимой для диагностики вызываемых ими заболеваний и эпидемиологического мониторинга.

2) В составе КПС *A. baumannii* обнаружено пять изомеров 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновой кислоты (псевдаминовая, 8-эпипсевдаминовая, легионаминовая, ацинетаминовая и 8-эпиацинетаминовая кислоты).

3) Два из этих изомеров – 8-эпиацинетаминовая и 8-эпипсевдаминовая кислоты, имеющие *D-глицеро-L-альтро* и *D-глицеро-L-манно*-конфигурацию, соответственно, впервые обнаружены и идентифицированы в составе КПС *A. baumannii* SGH0703 и RES546, соответственно.

4) Показано наличия корреляции установленных структур с составом генных кластеров биосинтеза КПС, сделаны предположения о функции генов, участвующих в биосинтезе КПС.

5) Установлено строение олигосахаридных продуктов расщепления КПС *A. baumannii* рекомбинантными деполимеразами бактериофагов, каждая из которых обладает специфической гликозидазной активностью и расщепляет КПС по гидролитическому механизму.

Диссертационная работа выполнена на хорошем научном и экспериментальном уровне. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

Основное содержание диссертационного исследования отражено в 31 работе, в том числе в 25 статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах, и в 6 тезисах докладов на российских и международных конференциях.

Таким образом, на основании анализа текста работы и публикаций автора можно утверждать, что цель работы, сформулированная в разделе «Введение», автором достигнута. Представленные в работе научные положения, выводы и рекомендации являются обоснованными. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации, которое соответствует теме диссертации и научной специальности.

По оформлению работы могут быть сделаны следующие замечания:

1. Биологическая часть раздела «Литературный обзор» интересна, но представляется избыточно информативной.

2. Раздел «Обсуждение результатов» содержит несколько менее, чем хотелось бы данных о сложностях при расшифровке и интерпретации спектров ЯМР.

3. В разделе «Обсуждение результатов» не приведено данных об установлении абсолютной конфигурации некоторых моносахаридов.



4. Отмечено некоторое количество стилистических шероховатостей и неточностей, что связано, главным образом, с использованием внутри лабораторных терминов.
5. В работе имеется незначительное количество опечаток, не сказывающихся на понимании приведенных данных.

В целом, несмотря на отмеченные замечания, диссертация представляет собой законченную объемную научно-исследовательскую работу, выполненную на высоком научном уровне, на актуальную тему, разрабатываемую во многих лабораториях мира. По своей научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа удовлетворяет всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым диссертационным работам на соискание степени кандидата наук, а её автор, Касимова Анастасия Алексеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 — биоорганическая химия.

Официальный оппонент:

к.х.н., заведующий лабораторией препаративной биохимии  
ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА

Каширское шоссе, 24,

г. Москва 115522,

тел. 8 (499) 311-67-78

E-mail: lvovslava@gmail.com

ФГБУ «ГНЦ Института иммунологии» ФМБА



В.Л. Львов

