

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР «САРАТОВСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ФИЦ СЦ РАН)

ул. Рабочая, 24, г. Саратов, 410028

Тел./факс (845-2) 23-45-10, 27-14-36. E-mail: [sncransar@san.ru](mailto:sncransar@san.ru), [www.снцран.рф](http://www.снцран.рф)

14 04 2019 № 14800/19/1  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

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

Уважаемый Михаил Петрович!

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Саратовский научный центр Российской академии наук» выражает согласие выступить в качестве ведущей организации по диссертации Науменко Олеси Игоревны на тему: «Установление строения и характеристика генных кластеров биосинтеза О-специфических полисахаридов нового вида энтеробактерий *Escherichia albertii*, близкородственного *Escherichia coli*», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Настоящим подтверждаем, что соискатель ученой степени не является сотрудником ФИЦ СЦ РАН, а также, что ФИЦ СЦ РАН не является организацией, где ведутся научно-исследовательские работы, по которым соискатель ученой степени является руководителем или исполнителем (соисполнителем).

Необходимые сведения о ведущей организации представляем и согласны на размещение этих сведений и отзыва на официальном сайте ИОХ РАН.

Приложение.

1. Сведения о ведущей организации – 2 экз.

Директор ФИЦ СЦ РАН  
д.т.н., профессор



В.А. Кушников

В диссертационный совет 24.1.092.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора химических наук по специальностям 1.4.3. Органическая химия, 1.4.9 – Биоорганическая химия при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт органической химии им Н.Д. Зелинского Российской академии наук

### СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Науменко Олеси Игоревны на тему: «Установление строения и характеристика генных кластеров биосинтеза O-специфических полисахаридов нового вида энтеробактерий *Escherichia albertii*, близкородственного *Escherichia coli*», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия

1.	Полное наименование организации	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Саратовский научный центр Российской академии наук»
2.	Сокращенное наименование организации	ФИЦ СЦ РАН
3.	Организационно-правовая форма организации	Федеральное государственное бюджетное учреждение
4.	Ведомственная принадлежность организации	Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
5.	Место нахождения	г. Саратов, Российская Федерация
6.	Почтовый адрес организации	410049, Россия, г. Саратов, ул. Рабочая, д. 24
7.	Телефон организации	Телефон: +7 (8452) 27-14-36
8.	Адрес электронной почты организации	sncransar@san.ru
9.	Адрес официального сайта организации в сети Интернет	http://снцран.рф
10.	Руководитель организации	доктор технических наук Кушников Вадим Алексеевич
11.	Наименование профильного структурного подразделения, занимающегося проблематикой диссертации	Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» (ИБФРМ РАН)
12.	Сведения о лице, утверждающем отзыв ведущей организации	Директор ФИЦ СЦ РАН, доктор технических наук Кушников Вадим Алексеевич
13.	Сведения о составителе отзыва из ведущей организации	Заведующий лабораторией биохимии ИБФРМ РАН, кандидат биологических наук (03.00.07 – микробиология; 03.00.04 – биохимия), доцент Федоненко Юлия Петровна
14.	Список основных публикаций работников структурного подразделения,	1. Sigida E., Shashkov A., Shelud'ko A., Zdrovenko E., Toukach P.V., Konnova S., Fedonenko Yu., Knirel Yu. Structural studies of O-specific polysaccharide(s) and biological activity toward plants of the lipopolysaccharide

<p>составляющего отзыва, за последние пять лет по теме диссертации (не более 15 публикаций)</p>	<p>from <i>Azospirillum brasilense</i> SR8 // Int. J. Biol. Macromol. 2019. V. 126. P. 246-253. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.229 Q1 IF 8.025</p> <p>2. Ibrahim I.M., Sigida E.N., Kokoulin M.S., Fedonenko Yu.P., Konnova S.A. Structure of the O-specific polysaccharide from halophilic bacterium <i>Halomonas ventosae</i> RU5S2EL // Carbohydr. Res. 2019. V. 473. P. 1–4. doi: 10.1016/j.carres.2018.12.010 Q2 IF 2.975</p> <p>3. Sigida E.N., Fedonenko Y.P., Shashkov A.S., Zdorovenko E.L., Konnova S.A., Knirel Y.A. Structure of the O-specific polysaccharide of <i>Azospirillum doebereineriae</i> type strain GSF71T // Carbohydr. Res. 2019. V. 478. P. 54-57. doi: 10.1016/j.carres.2019.04.009 Q2 IF 2.975</p> <p>4. Grinev V.S., Tregubova K.V., Anis'kov A.A., Sigida E.N., Shirokov A.A., Fedonenko Y.P., Yegorenkova I.V. Isolation, structure and potential biotechnological applications of the exopolysaccharide from <i>Paenibacillus polymyxa</i> 92 // Carbohydr. Polym. 2020. V. 232: 115780. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115780 Q1 IF 10.723</p> <p>5. Сигида Е.Н., Кокоулин М.С., Дмитренко П.С., Гринев В.С., Федоненко Ю.П., Коннова С.А. Структура О-специфического полисахарида и липида А типового штамма бактерий <i>Azospirillum rugosum</i> DSM-19657 // Биоорган. химия. 2020. Т. 46, № 1. С. 65–76. doi: 10.31857/S0132342320010133 Q4 IF 1.254</p> <p>6. Velichko N.S., Kokoulin M.S., Sigida E.N., Chesnokova P.D., Komissarov A.S., Kovtunov E.A., Fedonenko Y.P. Structural and genetic characterization of the <i>Herbaspirillum frisingense</i> GSF30 colitose-containing O-antigen // Int. J. Biol. Macromol. 2020. V. 161. P. 891–897. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.093 Q1 IF 8.025</p> <p>7. Sigida E.N., Shashkov A.S., Zdorovenko E.L., Konnova S.A., Fedonenko Y.P. Structure of the O-specific polysaccharide from <i>Azospirillum formosense</i> CC-Nfb-7(T) // Carbohydr. Res. 2020. V. 494: 108060. doi: 10.1016/j.carres.2020.108060 Q2 IF 2.975</p> <p>8. Sigida E.N., Ibrahim I.M., Kokoulin M.S., Abulreesh H.H., Elbanna K., Konnova S.A., Fedonenko Y.P. Structure of the 4-O-[(R)-1-carboxyethyl]-D-mannose-containing O-specific polysaccharide of a halophilic bacterium <i>Salinivibrio</i> sp. EG9S8QL isolated from Lake Qarun // Mar. Drugs. 2021. V. 19. 508. doi: 10.3390/md19090508 Q1 IF 6.085</p> <p>9. Сигида Е. Н., Гринёв В.С., Здорovenko Э.Л., Дмитренко А.С., Бурьгин Г.Л., Кондюрина Н.К., Коннова С.А., Федоненко Ю.П. Характеристика структуры и генов биосинтеза О-антигенов <i>Azospirillum zeae</i> N7(T), <i>Azospirillum melinis</i> ТМСУ 0552(T) и <i>Azospirillum palustre</i> В2(T) // Биоорган. химия. 2022. Т. 48, № 3. С. 302-312. doi: 10.31857/S0132342322030174 Q4 IF 1.254</p> <p>10. Kokoulin M.S., Sigida E.N., Kuzmich A.S., Ibrahim I.M., Fedonenko Y.P., Konnova S.A. Structure and antiproliferative activity of the polysaccharide from <i>Halomonas aquamarina</i> related to <i>Cobetia pacifica</i> // Carbohydr. Polym. 2022. V. 298: 120125. doi:</p>
---	--

		<p>10.1016/j.carbpol.2022.120125 Q1 IF 10.723  11. Sigida E.N., Zdrovenko E.L., Shashkov A.S., Dmitrenok A.S., Fedonenko Y.P. Structure of the O-specific polysaccharide of <i>Ochrobactrum endophyticum</i> KCTC 42485T containing 3-(3-hydroxy-2,3-dimethyl-5-oxoprolyl)amino-3,6-dideoxy-D-galactose // Carbohydr. Res. 2023. V. 527: 108810. Q3 IF 2.975</p>
--	--	--

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Директор ФИЦ СЦ РАН  
доктор технических наук, профессор




В.А. Кушников

« 17 » сч 2023 года.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки

Федерального исследовательского центра  
«Саратовский научный центр Российской  
академии наук»

д.т.н., профессор

В.А.Кушников

« 25 » апреля 2023 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Науменко Олеси Игоревны «Установление строения и характеристика генных кластеров биосинтеза O-специфических полисахаридов нового вида энтеробактерий *Escherichia albertii*, близкородственного *Escherichia coli*» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия

Диссертационная работа Науменко Олеси Игоревны посвящена исследованию строения O-специфических полисахаридов энтеробактерий *Escherichia albertii*, а также характеристике генных кластеров, ответственных за их биосинтез. *Escherichia albertii* является близкородственным видом *Escherichia coli* и часто ошибочно идентифицируется как энтеропатогенная или энтерогеморрагическая *E. coli* из-за сходства их фенотипических и генетических особенностей. Этот возбудитель вызывает вспышки гастроэнтерита, а некоторые штаммы продуцируют шигатоксин. Следует отметить, что клиническое значение этого вида еще полностью не изучено. Очевидная зоонозная природа инфекций требует более глубокого понимания филогенеза *E. albertii*, изучения репертуара факторов вирулентности и механизмов патогенности, а также разработки быстрых и эффективных методов молекулярного типирования микроорганизмов. В связи с этим актуальность исследования структурных особенностей липополисахаридов, представляющих один из основных компонентов внешней мембраны клеточной стенки грамотрицательных бактерий, состоящих из гидрофобного домена – липида

А (эндотоксина), «корового» олигосахарида и дистального полисахарида (или О-антигена), не вызывает сомнений. Получение и анализ геномных данных, ответственных за синтез отдельных структурных компонентов липополисахаридов, а также процессинг всей молекулы, необходимы для понимания филогении бактерий, а также выявления потенциальных мишеней для разработки новых антибиотиков.

Диссертация Олеси Игоревны написана по традиционному плану. Она состоит из введения, обзора литературы по теме диссертации, результатов собственных исследований и их обсуждения, экспериментальной части, заключения, выводов, а также списка цитируемой литературы, включающего 92 литературных источника, в том числе 6 – на русском языке, и приложений, содержащих 11 таблиц с химическими сдвигами ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , м.д.) интактных и модифицированных О-специфических полисахаридов исследуемых штаммов *E. albertii*. Материалы диссертации изложены на 132 страницах, включающих 15 страниц приложений, и иллюстрированы 55 рисунками и 4 таблицами.

Во введении приводится обоснование выбора объекта исследования, четко сформулирована цель диссертационной работы. В обзоре литературы обобщена актуальная информация о химических методах избирательного расщепления гликозидных связей, используемых в структурном анализе бактериальных полисахаридов. Следует отметить, что Олеся Игоревна приводит детальное описание и анализ специфических и неспецифических методов избирательного расщепления с использованием конкретных примеров. Сведения, представленные в обзоре, грамотно изложены, систематизированы и критически осмыслены автором. Обзор литературы позволяет сделать заключение, что диссертант осведомлен о современном состоянии исследований в данной области науки в полной мере. Не остается сомнений в обоснованности и актуальности темы исследования.

Целью диссертационной работы О.И. Науменко было установление строения О-антигенов *E. albertii*, относящихся к девяти различным серотипам, а также проведение биоинформатическими методами функционального анализа генов биосинтеза О-антигенов исследуемых бактерий.

Для достижения цели исследования были поставлены адекватные задачи, которые удалось полностью решить с использованием широкого набора

современных и классических химических, физических методов, с привлечением методов биоинформационного анализа.

В разделе «Результаты» автор подробно и убедительно раскрывает содержание выполненных исследований. Из наиболее значимых результатов, изложенных в диссертационной работе, заслуживают упоминания следующие. Установлены структуры повторяющихся звеньев О-полисахаридов девяти О-серогрупп *E. albertii*, что в большинстве случаев требовало использования комплексного подхода, заключающегося в сочетании данных химического анализа состава и абсолютной конфигурации моносахаридов, результатов ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения как для интактных полисахаридов, так и их фрагментов, полученных методами избирательного расщепления (распада по Смитсу, мягким кислотным гидролизом, сольволизом безводными кислотами). Так, при характеристике структуры О-антигена *E. albertii* O1 из-за устойчивости к кислотному расщеплению гликозидных связей производных 2,3-диамино-2,3-дидезоксиуроновых кислот моносахаридный состав был установлен с помощью ЯМР спектроскопии в сочетании с данными анализа генного кластера биосинтеза О-антигена, а для подтверждения установленной структуры повторяющегося звена было проведено избирательное сольволитическое расщепление О-полисахарида, которое потребовало подбора сольволитического реагента.

Были установлены уникальные структуры О-антигенов *E. albertii*, но выявлена близость строения повторяющихся звеньев ОПС *E. albertii* O1 и *Pseudomonas aeruginosa* O5; *E. albertii* O2 и *Providencia alcalifaciens* O28; *E. albertii* O3 и *E. coli* O181; *E. albertii* O5, *E. albertii* O7, *E. coli* O124 и *Shigella dysenteriae* типа 3; *E. albertii* O8 и *E. coli* O128, а также идентичность структур ОПС *E. albertii* O6 и *E. coli* O3. В ОПС *E. albertii* O9 было выявлено присутствие смеси двух полисахаридов, один из которых характеризовался уникальной структурой тетрасахаридного повторяющегося звена, состоящего из остатков  $\beta$ -D-GlcpNAc,  $\beta$ -D-Galp и двух остатков  $\beta$ -D-Manp, а второй представлял линейный маннан с трисахаридным повторяющимся звеном, структура которого была идентична ОПС *E. coli* O8.

При исследовании структуры ОПС *E. albertii* автором были успешно применены различные методы избирательного расщепления полисахаридов, при этом был оптимизирован метод получения олигосахаридных фрагментов полисахаридов сольволизом безводными трифторметансульфоновой и трифторуксусной кислотами. В ряде случаев был проведен анализ устойчивости гликозидных связей отдельных моносахаридных остатков к сольволитическому расщеплению.

Для каждого из исследуемых штаммов *E. albertii* был проведен анализ генных кластеров, ответственных за биосинтез О-антигенов. Этот раздел работы выполнялся в сотрудничестве с микробиологами из Китайского центра контроля и предотвращения болезней (Пекин, КНР). Биоинформатический анализ позволил выявить в генных кластерах все гены, кодирующие необходимые ферменты биосинтеза и процессинга изученных О-полисахаридов: гены синтеза нуклеотид-активированных моносахаридов, гены гликозилтрансфераз и гены процессинга О-антигена, кодирующие флиппазу и полимеразу. В работе приведены схемы генных кластеров биосинтеза О-антигенов штаммов *E. albertii*, отнесенных к 9 известным серогруппам. Следует отметить, что наличие у штамма *E. albertii* О9 двух О-полисахаридов, согласуется с выявленными двумя кластерами биосинтеза О-антигенов, один из которых кодирует уникальный гетерополисахарид, а второй – маннан, аналогичный резервному маннану, синтезируемому *E. coli* О8.

Полученные в работе материалы могут быть использованы при разработке эффективных методов молекулярного типирования природных и клинических изолятов *E. albertii*.

Говоря о работе в целом, необходимо заключить, что она написана хорошим научным языком и прекрасно оформлена. Рисунки и таблицы отлично иллюстрируют полученные автором результаты. Каждый раздел завершается кратким резюме, что удобно для понимания этой большой и емкой работы.

В работе отсутствуют сколь-нибудь значимые недостатки. Можно лишь отметить некоторые погрешности оформления, выражающиеся в наличии незначительного количества опечаток и пунктуационных ошибок. Однако эти недочеты никоим образом не умаляют высокую значимость предпринятых диссертантом усилий в получении результатов высокого научного уровня.



В ходе ознакомления с материалами диссертационной работы возникло несколько вопросов:

1. Поскольку основной целью работы было создание химической основы для классификации бактерий *E. albertii*, позволяет ли установление строения О-антигенов, а также анализ генных кластеров, ответственных за их биосинтез, внести уточнения в серологическую классификацию?
2. Отражает ли выявленное сходство структур О-антигенов и гомология ответственных за их биосинтез генов представителей различных серогрупп *E. albertii* с рядом этеропатогенных бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia alcalifaciens*, *Shigella dysenteriae*, *Escherichia coli* их возможные филогенетические связи?

Резюмируя изложенное, следует заключить, что диссертационная работа О.И. Науменко, является оригинальным экспериментальным исследованием, выполненным на самом высоком методическом уровне, который вносит существенный вклад в развитие биоорганической химии и биохимии микроорганизмов. Результаты диссертации широко известны научной общественности. Они были неоднократно доложены на представительных научных форумах, проводимых в нашей стране и за рубежом. Основное содержание работы в полной мере изложено в автореферате и отражено в 16 научных публикациях, включающих 11 статей в рецензируемых журналах, в том числе 2 научных обзора по теме диссертации в журналах «Успехи химии» и «Биоорганическая химия».

Диссертационное исследование Науменко О.И. по объему и научно-методическому уровню выполненных исследований является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержатся приоритетные данные о структурных особенностях О-антигенов девяти серотипов энтеробактерий *Escherichia albertii*, а также составе и организации генных кластеров О-антигенов.

По актуальности тематики, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и полноте их изложения, обоснованности выводов диссертационная работа «Установление строения и характеристика генных кластеров биосинтеза О-специфических полисахаридов нового вида энтеробактерий *Escherichia albertii*, близкородственного *Escherichia coli*» удовлетворяет всем требованиям раздела II «Положения о присуждении

ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. «О порядке присуждения ученых степеней» (в редакции Постановления Правительства РФ № 426 от 20.03.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Науменко Олеся Игоревна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биорганическая химия.

Материалы диссертационной работы Науменко Олеси Игоревны и отзыв на нее рассмотрены, обсуждены и единогласно одобрены на расширенном заседании лаборатории биохимии с привлечением сотрудников лаборатории генетики микроорганизмов ИБФРМ РАН (протокол № 270 от 20.04.2023 г.).

Отзыв ведущей организации подготовлен:

Заведующий лабораторией биохимии ИБФРМ РАН

кандидат биологических наук (03.00.07 – микробиология; 03.00.04 – биохимия),  
доцент



Ю.П. Федоненко

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов  
– обособленное структурное подразделение Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки  
Федерального исследовательского центра  
«Саратовский научный центр Российской академии наук»  
(ИБФРМ РАН)

410049 Саратов, Проспект Энтузиастов, д. 13

тел./факс: (8452) 970444

e-mail: [fedonenko\\_yu@ibppm.ru](mailto:fedonenko_yu@ibppm.ru)

Подпись Юлии Петровны Федоненко заверяю:

Ученый секретарь ФИЦ СЦ РАН,

кандидат биологических наук



О.Г. Селиванова

25 апреля 2023 г.