

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, www.снцран.рф

16.04.2024 № 17800/102/1

На № _____ от _____

И.о. директора Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Институт
органической химии им. Н.Д. Зелинского
Российской академии наук
члену-корреспонденту РАН
Терентьеву Александру Олеговичу

Уважаемый Александр Олегович!

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.ф.-м.н.

Б.Н. Хлебцов

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 Касимовой Анастасии Алексеевны 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

1.	Полное наименование организации	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Саратовский научный центр Российской академии наук»
2.	Сокращенное наименование организации	ФИЦ СНЦ 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 физико-математических наук Хлебцов Борис Николаевич
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 СНЦ РАН, доктор физико-математических наук Хлебцов Борис Николаевич
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	1. 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

<p>подразделения, составляющего отзыв, за последние пять лет по теме диссертации (не более 15 публикаций)</p>	<p>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 11.2</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Сигида Е.Н., Кокоулин М.С., Дмитренко П.С., Гринев В.С., Федоненко Ю.П., Коннова С.А. Структура O-специфического полисахарида и липида А типового штамма бактерий <i>Azospirillum rugosum</i> DSM-19657 // Биоорг. химия. 2020. Т. 46, № 1. С. 65–76. doi: 10.31857/S0132342320010133 Q4 IF 1.0 3. 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 8.2 4. 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 3.1 5. 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 5.4 6. Сигида Е. Н., Гринёв В.С., Здорovenко Э.Л., Дмитренко А.С., Бурьгин Г.Л., Кондюрина Н.К., Коннова С.А., Федоненко Ю.П. Характеристика структуры и генов биосинтеза O-антигенов <i>Azospirillum zeae</i> N7(T), <i>Azospirillum melinis</i> TMCY 0552(T) и <i>Azospirillum palustre</i> B2(T) // Биоорг. химия. 2022. Т. 48, № 3. С. 302-312. doi: 10.31857/S0132342322030174 Q4 IF 1.0 7. 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: 10.1016/j.carbpol.2022.120125 Q1 IF 11.2 8. Sigida E.N., Zdorovenko 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-oxopropyl)amino-3,6-dideoxy-D-galactose // Carbohydr. Res. 2023. V. 527: 108810. doi: 10.1016/j.carres.2023.108810 Q2 IF 3.1 9. Velichko N.S., Kokoulin M.S., Dmitrenok P.S., Grinev V.S., Kuchur P.D., Komissarov A.S., Fedonenko Y.P. Lipopolysaccharides of <i>Herbaspirillum</i> species and their relevance for bacterium–host interactions. International // J. Biol. Macromol. 2024. V. 261: 129516. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129516 Q1 IF 8.2 10. Krivoruchko A.A., Zdorovenko E.L., Ivanova M.F., Kostina E.E., Fedonenko Y.P., Shashkov A.S., Dmitrenok A.S.,
---	---

		<p>Ul'chenko E.A., Tkachenko O.V., Astankova A.S., Burygin G.L. Structure, physicochemical properties and biological activity of lipopolysaccharide from the rhizospheric bacterium <i>Ochrobactrum quorumnocens</i> T1Kr02, containing D-fucose residues // Int. J. Mol. Sci. 2024. V. 25(4): 1970. doi: 10.3390/ijms25041970 Q1 IF 5.6</p> <p>11. Sigida E.N., Kuzina M.S., Kokoulin M.S., Ibrahim I.M., Grinev V.S., Konnova S.A., Fedonenko Y.P. Structure of the O-polysaccharide from the moderately halophilic bacterium <i>Halomonas fontilapidosi</i> KR26 // Carbohydr. Res. 2024. V. 536: 109019. doi: 10.1016/j.carres.2023.109019 Q2 IF 3.1</p> <p>12. Sigida E.N., Zdrovenko E.L., Shashkov A.S., Dmitrenok A.S., Kondyurina N.K., Konnova S.A., Fedonenko Y.P. Structural studies of the O polysaccharides from the lipopolysaccharides of <i>Azospirillum thioophilum</i> BV-S^T and <i>Azospirillum griseum</i> L-25-5w-1^T // Carbohydr. Res. 2024. V. 548: 109089. doi: 10.1016/j.carres.2024.109089 Q2 IF 3.1</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 физико-математических наук



[Handwritten signature]

Б.Н. Хлебцов

« 16 » 04 2024 года.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

Федерального исследовательского центра

«Саратовский научный центр Российской
академии наук»



д.ф.-м.н.

Б.Н. Хлебцов

«26» апреля 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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

Диссертационная работа Касимовой Анастасии Алексеевны посвящена исследованию строения капсульных полисахаридов грамотрицательных бактерий *Acinetobacter baumannii* — одного из наиболее распространенных возбудителей внутрибольничных инфекций с множественной лекарственной устойчивостью. Распространенность вызванных *A. baumannii* инфекций ежегодно увеличивается из-за нескольких факторов, включая нерегулируемое применение антибиотиков. Следует отметить, что пациенты с тяжелой инфекцией *A. baumannii* демонстрируют высокий уровень смертности наряду с плохим прогнозом, что затрудняет их лечение. В феврале 2017 года ВОЗ причислила ацинетобактеров к наиболее опасным бактериям в связи с их резистентностью к существующим антибактериальным препаратам.

Один из механизмов устойчивости к антибиотикам у нозокомиальных штаммов *A. baumannii* довольно часто связан с нарушением синтеза, либо серьезными модификациями структуры липополисахарида внешней мембраны. При этом одним из основных факторов вирулентности данных бактерий является капсульный полисахарид, формирующий на поверхности бактериальной клетки

защитный слой. Локусы биосинтеза К-антигенов (KL) *A. baumannii* характеризуются генетическим полиморфизмом, обуславливающим феноменальное структурное разнообразие капсульных полисахаридов – более 240 KL-типов. Одной из острых проблем терапии инфекций, вызванных *A. baumannii*, является отсутствие платформ для уверенной диагностики патогена и разработки профилактических мер.

В связи с этим актуальность диссертационной работы Касимовой Анастасии Алексеевны, направленной на установление строения капсульных полисахаридов, продуцируемых бактериями *A. baumannii*, а также изучение особенностей расщепления капсульных полисахаридов ацинетобактера деполимеразами бактериофагов, не вызывает сомнений.

Характеристика структуры капсульных полисахаридов 25 К-типов в совокупности с комплексным анализом особенностей генных кластеров их биосинтеза позволили создать основу для классификации штаммов *A. baumannii*, востребованную для разработки экспресс-методов молекулярного типирования, серодиагностики, экологического мониторинга и выявления очагов инфекции данного патогена. Охарактеризованное расщепление капсульных полисахаридов 15 К-типов *A. baumannii* рекомбинантными деполимеразами бактериофагов с установлением структуры продуктов реакции может быть использовано в качестве основы для создания эффективной фаготерапии широкого спектра инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами ацинетобактера.

Диссертация Анастасии Алексеевны написана по традиционному плану. Она состоит из введения, обзора литературы по теме диссертации, результатов собственных исследований и их обсуждения, экспериментальной части, выводов, а также списка цитируемой литературы, включающего 246 литературных источника, и приложения, содержащего 19 таблиц с химическими сдвигами ЯМР ^1H и ^{13}C (δ , м.д.) интактных и модифицированных капсульных полисахаридов, а также их олигосахаридных фрагментов из исследуемых штаммов *A. baumannii*. Материалы диссертации изложены на 240 страницах, включающих 23 страницы приложений, и иллюстрированы 118 рисунками и 9 таблицами.

Во введении приводится обоснование выбора объекта исследования, четко сформулирована цель диссертационной работы и задачи, поставленные для ее

достижения. Обзор литературы начинается с характеристики исследуемых бактерий, далее приводится описание установленных к началу работы над диссертацией структур капсульных полисахаридов и особенностей строения липоолигосахарида внешней мембраны *A. baumannii*. В этом разделе литературного обзора, автор приводит анализ производных нонулозоновых кислот, выявленных в составе К-антигенов *A. baumannii*. Далее следует краткая характеристика бактериофагов и их деполимераз, а также сфер практического использования бактериофагов. 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 А.А. Касимовой было установление строения капсульных полисахаридов, продуцируемых грамотрицательными бактериями *A. baumannii*, и изучение их расщепления деполимеразами бактериофагов.

Для достижения цели исследования были поставлены адекватные задачи, которые удалось полностью решить с использованием широкого набора современных и классических химических, физических методов, а также привлечением методов биоинформатического анализа.

В разделе «Результаты и их обсуждение» Анастасия Алексеевна подробно и убедительно раскрывает содержание выполненных исследований. Из наиболее значимых результатов, изложенных в диссертационной работе, заслуживают упоминания следующие. Установлены уникальные структуры 25 новых типов капсульных полисахаридов *A. baumannii*, 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, так и модифицированных полисахаридов, полученных методами избирательного расщепления (О-дезацетилирования, распада по Смиуту, мягкого кислотного гидролиза, сольволиза трифторуксусной кислотой). В ходе определения структуры капсульных полисахаридов *A. baumannii* для некоторых из них была выявлена отличительная особенность, а именно присутствие в боковой цепи

полисахарида 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксинон-2-улозоновых кислот: псевдаминовой, легионаминовой, ацинетаминовой, 8-эпиацинетаминовой и 8-эпипсевдаминовой кислот, причем последние два изомера нон-2-улозоновых кислот, имеющих D-глицеро-L-альтро и D-глицеро-L-манно-конфигурацию, были впервые идентифицированы впервые в составе капсульных полисахаридов штаммов *A. baumannii* SGH0703 и RES546.

Следует отметить, что анализ структуры капсульных полисахаридов *A. baumannii* сопровождался анализом генных кластеров, ответственных за их биосинтез. Этот раздел работы выполнялся в сотрудничестве с коллегами из Центра иммунологии и инфекционного контроля (Брисбен, Австралия). Биоинформатический анализ позволил выявить в генных кластерах все гены, кодирующие необходимые ферменты биосинтеза и процессинга охарактеризованных капсульных полисахаридов *A. baumannii*: гены синтеза нуклеотидных предшественников моносахаридов, гликозилтрансфераз, транслоказ и полимераз. В работе приведены схемы близкородственных K-локусов (KL), характерной особенностью которых являлось расположение модулей генов синтеза моносахаридов, трансмембранного экспорта, гликозилтрансфераз. Полученные в работе материалы могут быть использованы при разработке эффективных методов молекулярного типирования изолятов *A. baumannii*.

Раздел 3.4 диссертации посвящен анализу особенностей расщепления капсульных полисахаридов *A. baumannii* деполимеразами бактериофагов с установлением структуры образуемых продуктов ферментолитиза методами масс-спектрологии, что в свою очередь позволило установить механизм действия ферментов.

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. Так в тексте рисунок 99 предшествует рисунку 98 (С. 148-149). Часть раздела «Генетика

биосинтеза капсульного полисахарида» логичнее было бы перенести в литературный обзор. 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. Какие преимущества дает комплексный подход к структурным исследованиям гликополимеров бактерий, сочетающий химические и биоинформатические исследования? Каково соответствие классификационных схем K-типов и KL-типов *Acinetobacter baumannii*?
2. Насколько перспективны результаты исследования по характеристике действия деполимераз бактериофагов в отношении капсульных полисахаридов *Acinetobacter baumannii* для использования в иммунопрофилактике или фаготерапии инфекций, вызываемых данным патогеном?

Резюмируя изложенное, следует заключить, что диссертационная работа А.А. Касимовой, является оригинальным экспериментальным исследованием, выполненным на 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 31 научной публикации, включающих 25 статей в рецензируемых журналах, в том числе 1 научный обзор по теме диссертации в журнале «Биохимия».

Диссертационное исследование Касимовой А.А. по объему и научно-методическому уровню выполненных исследований является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержатся приоритетные данные о структурных особенностях 25 новых типов капсульных полисахаридов *Acinetobacter baumannii*, генных локусах, ответственных за их биосинтез, а также особенностях расщепления капсульных полисахаридов деполимеразами бактериофагов.

По актуальности тематики, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и полноте их изложения, обоснованности выводов диссертационная работа «Капсульные полисахариды *Acinetobacter baumannii*: строение и расщепление деполимеразами бактериофагов» 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 Касимова Анастасия Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Материалы диссертационной работы Касимовой Анастасии Алексеевны и отзыв на нее рассмотрены, обсуждены и единогласно одобрены на расширенном заседании лаборатории биохимии с привлечением сотрудников лаборатории генетики микроорганизмов ИБФРМ РАН (протокол № 281 от 24.04.2024 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

Подпись Юлии Петровны Федоненко заверяю:
Ученый секретарь ФИЦ СЦ РАН,
кандидат биологических наук



О.Г. Селиванова

26 апреля 2024 г.