

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

экспертной комиссии диссертационного совета

Комиссия диссертационного совета 24.1.092.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата химических наук при ИОХ РАН в составе д.х.н., проф. Веселовский В. В. (председатель), д.х.н., проф. Сухоруков А. Ю., д.х.н., проф. Усов А. И., рассмотрев диссертацию и автореферат диссертации **Касимовой Анастасии Алексеевны** «Капсульные полисахариды *Acinetobacter baumannii*: строение и расщепление деполимеразами бактериофагов», (научный руководитель – д.х.н. Книрель Ю. А.), представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9.- биоорганическая химия, установила:

Диссертационная работа Касимова А. А. «Капсульные полисахариды *Acinetobacter baumannii*: строение и расщепление деполимеразами бактериофагов» посвящена решению задач, представляющих несомненный научный и практический интерес.

**Актуальность работы.** *Acinetobacter baumannii* – граммотрицательная факультативно-анаэробная палочковидная бактерия, входящая в состав нормальной микрофлоры кишечника, кожи и ротовой полости человека. В прошлом она считалась патогенным микроорганизмом низкой категории, но теперь стала одной из основных причин внутрибольничных инфекций таких как менингит, пневмония, инфекции мочеполовых путей, сепсис и другие. Источником инфекций в больничных условиях могут являться поверхности, медицинские устройства и медицинский персонал.

Проблема обостряется возникновением у ацинетобактера резистентности к антибиотикам и антисептикам, которая вызвана с одной стороны необоснованным и неограниченным их применением, а с другой стороны способностью бактерий быстро приспосабливаться к неблагоприятным условиям среды. Ввиду увеличения антибиотикоустойчивости, а также большого разнообразия самих бактерий,

становится актуальным поиск альтернативных способов борьбы с клиническими штаммами ацинетобактера, таких как вакцинопрофилактика и бактериофаговая терапия. Последняя заключается в инфицировании бактериальной клетки бактериофагами и ее последующем лизисе.

Одним из основных факторов вирулентности ацинетобактера является капсульный полисахарид (КПС), который находится на поверхности клеточной стенки. Он создает вокруг бактериальной клетки вязкий поверхностный слой (капсулу), защищающий ее от неблагоприятных условий среды, действия антибиотиков, антисептиков и бактериофагов.

Структуры КПС отличаются широким разнообразием вследствие полиморфизма генного капсульного локуса (KL-локуса), который включает гены, кодирующие ферменты, ответственные за синтез и экспрессию капсулы, а именно белки, экспортирующие КПС, синтезирующие простые и специфические моносахариды – компоненты КПС, гликозилтрансферазы, полимеразу, транслоказу и другие. Это структурное разнообразие позволяет бактериям избегать действия специфического иммунного ответа хозяина.

Одним из новых подходов для борьбы с инфекциями, вызываемыми ацинетобактером, является фаготерапия, основанная на применении препаратов бактериофагов, лизирующих штаммы *A. baumannii*. Структурные белки бактериофагов, обладающие полисахарид-деполимеразной активностью, с высокой специфичностью узнают и расщепляют по различным ферментативным механизмам КПС ацинетобактера. Эта активность позволяет фаговым частицам проникать через защитный капсульный слой бактерий, адсорбироваться на поверхности клетки и вводить внутрь нее свой генетический материал.

**Новизна работы.** В результате проведенного исследования установлено строение КПС 25 K-типов *Acinetobacter baumannii* с помощью химических методов, а также методов одномерной и двумерной спектроскопии ЯМР на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  и масс-спектрометрии высокого разрешения. Произведен

анализ генетических данных и отнесены функции генов, входящих в состав генных кластеров. Тем самым создана основа для классификации штаммов *A. baumannii*, необходимой для серодиагностики, эпидемиологического мониторинга, выявления источников инфекции и патогенных клеточных линий. В составе КПС *A. baumannii* обнаружены производные нонулозоновых кислот, некоторые из которых впервые найдены в природе. Полученные данные могут быть использованы для разработки эффективных методов молекулярного типирования природных и клинических изолятов этих бактерий.

Изучено расщепление КПС 15 типов рекомбинантными деполимеразами бактериофагов и установлено строение продуктов расщепления, что необходимо для создания основы фаготерапии инфекций, вызванных штаммами антибиотикорезистентного патогена *A. baumannii*.

**Практическая значимость.** Полученные данные об изучении строения новых капсульных полисахаридов являются химической основой для классификации штаммов бактерий *Acinetobacter baumannii*, необходимой для диагностики вызываемых ими заболеваний и эпидемиологического мониторинга. Изучение взаимодействия полисахарид-деградирующих ферментов бактериофагов с основным фактором вирулентности бактерии вносит вклад в развитие альтернативного метода лечения инфекций, вызванных *Acinetobacter baumannii*.

**Степень достоверности обеспечивается** тем, что экспериментальные работы и спектральные исследования полученных соединений выполнены на современном сертифицированном оборудовании, обеспечивающем получение надежных данных. Состав и структура соединений, обсуждаемых в диссертационной работе, подтверждены данными 1D и 2D ЯМР спектроскопии, а также масс-спектрометрии высокого разрешения.

**Личный вклад соискателя.** Соискатель самостоятельно проводил все химические эксперименты, включая выделение, анализ состава, очистку, модификацию и избирательное расщепление КПС, интерпретацию данных

ЯМР и масс-спектров, обработку КПС фаговыми деполимеразами, выделение в чистом виде продуктов расщепления и их интерпретацию. Также автор принимал участие в функциональном анализе генов биосинтеза изученных К-типов. Обсуждение результатов и сделанные выводы основаны на данных, полученных автором лично или при его участии в совместных исследованиях с соавторами, перечисленными в списке публикаций. Все статьи по материалам диссертации подготовлены при непосредственном участии автора.

Соискатель также осуществлял апробацию работ на конференциях и выполнял подготовку публикаций по выполненным исследованиям.

Опубликованные материалы и автореферат **полностью отражают основное содержание** работы.

**Диссертация отвечает требованиям, предъявляемым ВАК** к работам на соискание степени кандидата химических наук, и может быть представлена к защите по специальности 1.4.9. – биоорганическая химия. Таким образом, соискатель имеет 42 публикаций, в том числе 25 по теме диссертации, а также 6 тезисов на всероссийских и международных конференциях.

Исходя из вышеизложенного, можно утверждать, что по актуальности, объему, уровню выполнения, новизне полученных результатов диссертационная работа “Капсульные полисахариды *Acinetobacter baumannii*: строение и расщепление деполимеразами бактериофагов” Касимовой А.А. соответствует критериям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, является научно-квалификационной работой. Экспертная комиссия рекомендует диссертационную работу Касимовой А.А. к защите на диссертационном совете 24.1.092.01 ИОХ РАН по присуждению ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. – биоорганическая химия.

Рекомендуемые официальные оппоненты (д.х.н., проф. Бовин Н. В., ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина

и Ю.А. Овчинникова» РАН и к.х.н., Львов В. Л., ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА) и ведущая организация (ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Саратовский научный центр Российской академии наук) выбраны соответственно профилю диссертационной работы.

Решение диссертационного совета о приеме к защите кандидатской диссертации Касимовой А. А. по теме “Капсульные полисахариды *Acinetobacter baumannii*: строение и расщепление деполимеразы бактериофагов” принято 13 марта 2024 года на заседании диссертационного совета 24.1.092.01.

д.х.н., проф. Сухоруков А. Ю.



д.х.н., проф. Усов А. И.



д.х.н., проф. Веселовский В. В.



Подписи д.х.н., проф. Сухорукова А. Ю., д.х.н., проф. Усова А. И., д.х.н., проф. Веселовского В. В., заверяю

Ученый секретарь ИОХ РАН, к.х.н.



И. К. Коршевец