ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
**«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»**
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32
www.fbras.ru, info@fbras.ru

06.11.2026 № 85-01-19/1357

На № от

г “УТВЕРЖДАЮ” ¬

Директор Федерального
государственного учреждения
«Федеральный исследовательский
центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской
академии наук,
доктор биологических наук

Федоров А.Н.

«06» 11 2026 г

М.П.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Болосова Ильи Александровича «Изучение функциональной активности и совместного действия кателицидинов китопарнокопытных», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия

Актуальность темы исследования

Рост антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов является одной из наиболее острых угроз современного здравоохранения. На сегодняшний день в клинической практике не осталось антибиотиков, эффективных против ряда резистентных бактерий. Внедрение в практику новых вариантов антибиотиков известных химических классов идёт крайне медленно и не сопровождается значимым ростом эффективности действия в отношении уже сформировавшихся резистентных штаммов.

В этой связи критически востребован поиск принципиально новых антимикробных агентов. Одним из наиболее перспективных источников таких соединений являются антимикробные пептиды (АМП) — эффекторные молекулы врождённого иммунитета. Их отличие от классических антибиотиков по

механизмам действия и представленности в живых организмах обусловливает возможность подавления роста бактерий, устойчивых к традиционным антибиотикам, а также существенно более низкие риски формирования устойчивости. На сегодняшний день описано более трёх тысяч природных АМП, а общее количество, включая синтетические аналоги и предсказанные структуры, — на порядок больше. Однако отсутствуют чёткие представления о приоритетных для дальнейшего изучения и применения группах АМП, что приводит к значительной эмпиричности проводимых разработок и недостаточности имеющихся данных для доказательных обобщений. Поэтому для обеспечения дальнейшего прогресса в этой области важное значение имеют комплексные исследования определённых классов АМП, показавших свою перспективность, но остающихся слабо охарактеризованными.

Такой востребованной для изучения группой является семейство кателицидинов — эффекторных молекул врождённого иммунитета позвоночных животных, получаемых при расщеплении препропептидов, которые содержат высококонсервативный N-концевой кателиновый домен. Кателицидины проявляют как прямое антимикробное действие в отношении широкого спектра патогенов, так и способность стимулировать выработку цитокинов и модулировать воспалительные процессы. При этом разнообразие продуктов созревания препропептидов весьма велико, что открывает возможности для их комбинированного применения. Кателицидины по-разному представлены и у разных организмов. Так, значительным разнообразием и эффективностью действия характеризуются кателицидины китопарнокопытных (Cetartiodactyla).

Изложенные выше соображения определяют актуальность диссертационной работы И.А. Болосова, направленной на изучение функциональной активности и механизмов совместного действия кателицидинов китопарнокопытных, а также на снижение их токсичности в отношении клеток человека.

Подготовленная И.А. Болосовым диссертация и его публикации убедительно свидетельствуют об успешном достижении поставленной цели.

Структура и содержание работы.

Диссертационная работа изложена на 122 страницах, содержит 24 рисунка, 8 таблиц и состоит из разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы» (234 источника).

Во введении диссертант обосновывает актуальность темы исследования. Дается оценка антимикробных агентов на основе АМП и кателицидинов как перспективного объекта изучения, формулируются цель и задачи диссертационного

исследования. Во введении также представлены оценка научной новизны, теоретической и практической значимости работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, приведен перечень публикаций диссертанта и сведения о представлении результатов на российских и международных научных конференциях.

Литературный обзор начинается с общей оценки АМП, их разнообразия, значимости изучения и перспектив медицинского применения. Далее подробно рассматриваются два семейства АМП млекопитающих - дефенсины и кателицидины. Представлены современные данные о строении и биологической активности кателицидинов, их структурной классификации (α-спиральные, β-шпилечные, пролин-богатые), механизмах антимикробного действия, а также о совместном действии и синергических эффектах АМП.

В целом литературный обзор характеризуется качественным репрезентативным отбором материала, корректным и логичным его рассмотрением, а также хорошо выстроенными взаимосвязями между отдельными частями. Обзор отражает глубокие знания И.А. Болосова в тематической области его исследования, создаёт необходимую базу для последующего анализа собственных результатов, оценки их новизны и значимости.

Глава «Материалы и методы» содержит перечни оборудования, реактивов и расходных материалов, а также подробное описание методик, использованных на всех этапах работы – от конструирования нуклеотидных последовательностей и получения рекомбинантных пептидов до оценки их биологической активности (антимикробной, гемолитической, цитотоксической), изучения проницаемости бактериальных мембран, ингибирования биосинтеза белка in vitro, анализа механизмов резистентности и оценки лечебной эффективности на мышиной модели инфекции. Разнообразие применённых методик свидетельствует о высокой квалификации И.А. Болосова в области биоорганической химии.

В третьей главе представлены и обсуждены полученные экспериментальные результаты. Разработаны способы получения ряда кателицидинов китопарнокопытных. Получен ряд кателицидинов, отличающихся по структуре и по организмам, в которых они представлены в природе, а также модицицированные варианты ряда АМП. Показана ключевая роль транспортера SbmA в проникновении изученных АМП в грамотрицательные бактерии и определяющая роль С-концевого участка в этом процессе. Впервые изучено совместное действие кателицидинов различных структурных классов; выявлены выраженные синергические эффекты, показано, что совместное применение кателицидинов препятствует формированию бактериальной резистентности. Проведен дизайн аналогов протегрина свиньи,

получен вариант с терапевтическим индексом в 30 раз выше, чем у природного пептида, эффективность которого подтверждена in vivo на мышиной модели.

Обоснованность и достоверность выводов.

Эксперименты, представленные в автореферате, диссертации и публикациях, полностью соответствуют цели и задачам исследования, корректно спланированы и выполнены. Интерпретация результатов основана на всестороннем анализе данных с использованием современных методических подходов и с учётом результатов предшествующих исследований. Достоверность полученных данных подтверждается их воспроизводимостью и статистическим анализом, а также соответствием результатов, полученных независимыми методами. Это даёт основания однозначно заключить, что положения, выводы и рекомендации диссертационной работы являются достоверными и обоснованными.

Научная новизна работы

В работе впервые охарактеризован ряд природных кателицидинов китопарнокопытных, включая уникальный β-шпилечный додекапептид кашалота PcDode. Впервые установлено, что совместное действие кателицидинов различных структурных классов приводит к выраженному синергизму, а также препятствует формированию бактериальной резистентности – эти данные имеют принципиальное значение для понимания функционирования коктейлей АМП. Показана возможность целенаправленного снижения цитотоксичности β-шпилечных АМП путём ослабления их способности к олигомеризации, что открывает новый подход к рациональному дизайну антимикробных препаратов.

Практическая значимость полученных результатов.

Разработана биотехнологическая система получения рекомбинантных кателицидинов китопарнокопытных в бактериальной системе экспрессии, обеспечивающая получение гомогенных препаратов. Показана эффективность сконструированного аналог протегрина [V16R] на модели мышиной септицемии. Разработан протокол тестирования динамики формирования резистентности бактериальных штаммов к АМП. Охарактеризованы мутации в гене sbmA, приводящие к устойчивости к пролин-богатым кателицидинам. Предложены сочетания «коктейлей» кателицидинов, препятствующие формированию резистентности E. coli при многократном пассажировании.

Замечания.

При ознакомлении с диссертацией возникли некоторые вопросы и замечания.

1. Интересным и практически востребованным результатов диссертационного исследования является являются обнаруженные синергические эффекты при одновременном использовании двух кателицидинов, а также тот факт,

что их механизмы отличаются для разных пар АМП. В этой связи представляло бы интерес дополнительное обсуждение того, насколько достижимо дополнительное увеличение синергических эффектов, какие сочетания кателицидинов и, возможно, других АМП представляются наиболее перспективными для дальнейшего экспериментального изучения этих эффектов.

2. Выбор штамма E. coli ATCC 25922 для испольщования в in vivo тестировании АМП требует более подробного обоснования. Насколько вариабельны антимикробные эффекты АМП по отношению к различным патогенов? Какая проверка на расширенной панели штаммов будет достаточна для доказательной сравнительной оценки кандидатных препаратов.

3. Диссертантом показан существенный выигрыш в характеристиках терапевтического действи, достигнутый в результате молекулярного дизайна вариантов протегрина. Можно ли считать проведенное сопоставление итоговым или проверка каких-либо дополнительных вариантов протегрина представляется целесообразной. В какой момент и на основании каких полученных результатов можно делать вывод о завершении скрининга вариантов и переходе к подробной оценке, ввкючлая весь необходимый цикл доклинических и клинических исследований, выбранного препарата?

4. Характерной особенностью кателицидинов, отмеченной диссертантом, явдяется наличие у них как антимикробных, так и иммуномодулирующих эффектов. В какой степени для выбора наиболее перспективных препаратов критична характеричтика этих двух ипов воздействия, потенциально существенно усложняющая тестирование? Или же иммуномодуляцию можно рассматривать как сопутствующий положительный эффект, который при необходимости может быть достигнут и другими терапевтическими средствами?

Высказанные замечания не умаляют научной ценности диссертационного исследования. Они имеют частный и дискуссионный характер, не затрагивают обоснованность положений, выносимых на защиту, и не снижают общую положительную оценку работы.

Заключение.

Результаты диссертационного исследования опубликованы в семи статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, а также представлены на шести профильных научных мероприятиях. Публикации и автореферат в полной мере отражают содержание выполненной работы, ее результаты и выводы. Тематика исследования полностью соответствует паспорту научной специальности 1.4.9. Биоорганическая химия (направление 5 «Низкомолекулярные биорегуляторы»).

Результаты и выводы диссертации обладают высокой практической значимостью и могут быть рекомендованы к использованию в ведущих научных и образовательных организациях, в том числе в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, Федеральном научно-клиническом центре физико-химической медицины имени Ю.М. Лопухина ФМБА России, Национальном исследовательском центре эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Первом Московском государственном медицинском университете имени И.М. Сеченова, Российском национальном исследовательском медицинском университете имени Н.И. Пирогова, Федеральном исследовательском центре «Пущинский научный центр биологических исследований Российской Академии наук», Государственном научном центре прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск), Санкт-Петербургском государственном медицинском университете имени академика И.П. Павлова, Институте экспериментальной медицины (Санкт-Петербург), Институте клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН (Оренбург), Федеральном исследовательском центре фундаментальной и трансляционной медицины (Новосибирск).

Анализ диссертации, автореферата и опубликованных работ позволяет заключить, что И.А. Болосовым выполнена завершенная научно-квалификационная работа высокого теоретического и экспериментального уровня, характеризующаяся актуальностью поставленных задач, научной новизной и практической значимостью полученных результатов. В диссертации содержится решение научной задачи, имеющей существенное значение для развития биоорганической химии: охарактеризованы механизмы индивидуального и комбинированного антимикробного действия кателицидинов китопарнокопытных и на основании их сравнительного изучения предложены подходы к констуированию на их основе более эффективных и менее токсичных препаратов.

Диссертационная работа «Изучение функциональной активности и совместного действия кателицидинов китопарнокопытных» в полной мере соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Илья Александрович Болосов, заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. Биоорганическая химия.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном научном семинаре лабораторий иммунобиохимии, биомедицинской химии и молекулярных основ

биотрансформаций Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (протокол № 10 от 2 ноября 2026 г.), основное направление научно-исследовательской деятельности которых соответствует тематике данной диссертационной работы.

ОТЗЫВ СОСТАВИЛ:
Доктор химических наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории иммунобиохимии
Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»

Анатолий Виталиевич Жердев

«06» ноября 2026 г.

119071, Москва, Россия, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.
Телефон: (495)954-28-04. Адрес электронной почты: zherdev@inbi.ras.ru

Подпись А.В. Жердева удостоверяю

Ученый секретарь ФИЦ Биотехнологии РАН,
кандидат биологических наук

А.Ф. Орловский

«06» ноября 2026 г.

М.П.

Данные об организации:
Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»
119071, Москва, Россия, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.
Телефон: (495)954-52-83, факс (495)954-27-32.
Адрес электронной почты: info@fbras.ru