ОТЗЫВ

официального оппонента

Лазарева Василия Николаевича, доктора биологических наук, доцента,

на диссертационную работу Сафроновой Виктории Николаевны

«Поиск и характеристика новых BRICHOS-ассоциированных антимикробных пептидов», представленную на соискание ученой степени

кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия

Актуальность темы исследования

Диссертация В.Н. Сафроновой посвящена поиску и характеристике новых BRICHOS-ассоциированных антимикробных пептидов морских полихет. Выбор темы обусловлен быстрым распространением устойчивости патогенных микроорганизмов к традиционным антибактериальным препаратам, особенно в условиях ограниченного числа соединений с принципиально новыми механизмами действия. Особую значимость данная проблема приобретает в отношении грамотрицательных возбудителей внутрибольничных инфекций, включая представителей группы ESKAPEE, для лечения которых доступен лишь ограниченный выбор резервных антибиотиков, обладающих выраженной токсичностью. В этом контексте антимикробные пептиды представляют особый интерес как природные молекулы врожденного иммунитета, характеризующиеся значительным структурным разнообразием и широким спектром механизмов действия.

Одним из перспективных источников таких соединений являются морские полихеты, обитающие в условиях высокой микробной нагрузки и остающиеся сравнительно малоизученными с точки зрения разнообразия биологически активных молекул. Предложенная автором стратегия поиска защитных пептидов по консервативному BRICHOS-домену в составе белков-предшественников позволяет преодолеть ограничения традиционного поиска, основанного на гомологии со зрелыми последовательностями известных антимикробных пептидов, и открывает возможности для выявления новых структурных семейств. В связи с этим диссертация Сафроновой В.Н. представляется актуальной как в фундаментальном, так и в прикладном отношении.

Общая характеристика, структура и содержание диссертации

Диссертационная работа построена по классическому принципу и содержит все необходимые структурные элементы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, а также библиографический список

использованных литературных источников. Работа представлена на 163 страницах, содержит 54 рисунка и 11 таблиц.

Цель работы заключалась в поиске и изучении свойств защитных пептидов полихет, образующихся в результате протеолитического процессинга BRICHOS-содержащих белков-предшественников. Для достижения поставленной цели автором был выполнен ряд задач, обеспечивший последовательный переход от биоинформатического поиска потенциальных антимикробных пептидов и разработки биотехнологических способов получения их рекомбинантных аналогов к изучению биологической активности и механизмов антибактериального действия, рациональному дизайну аналогов с улучшенными свойствами и *in vivo* оценке эффективности и безопасности наиболее перспективных соединений.

Во введении обоснована актуальность исследования, определены его цель и задачи, раскрыты его научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены положения, выносимые на защиту, а также сведения об апробации результатов и публикациях автора. Литературный обзор формирует необходимую основу диссертационной работы и содержит анализ структурного разнообразия и механизмов действия антимикробных пептидов, современного состояния исследований в данной области и перспектив их использования при разработке терапевтических препаратов.

В главе «Материалы и методы» В.Н. Сафронова описывает ряд современных биоинформатических, молекулярно-биологических, биофизических, микробиологических методов, соответствующих задачам исследования.

Основные результаты работы, представленные в разделе «Результаты и обсуждение», изложены логично и последовательно отражают основные этапы работы: от поиска и получения новых пептидов до детальной характеристики их биологической активности. В результате анализа транскриптомов морских полихет автором были выявлены последовательности BRICHOS-ассоциированных защитных пептидов, относящихся к различным структурным классам, включая β-шпилечные, α-спиральные и дефенсин-подобные пептиды. Особого внимания заслуживает природный β-шпилечный пептид HfBRI-25, который без направленной модификации аминокислотной последовательности продемонстрировал терапевтическую эффективность на модели инфекции, вызванной *E. coli*. Другим значимым результатом данного исследования стало получение путем рационального дизайна аналога абареницина Ap9, характеризующегося повышенной антибактериальной активностью и сниженной токсичностью в отношении человеческих эритроцитов. Для данного пептида исследован молекулярный механизм

действия, показана низкая вероятность формирования резистентности к нему у бактерий, а также подтверждена эффективность на моделях бактериальных инфекций у мышей, в том числе на модели инфекции, вызванной устойчивым к полимиксинам штаммом. Заключение обобщает результаты исследования и определяет перспективы дальнейшего изучения обнаруженных соединений.

Научная новизна и практическая значимость работы

Научная новизна работы состоит в расширении представлений о структурном разнообразии BRICHOS-ассоциированных антимикробных пептидов морских полихет и механизмах их действия, а также в подтверждении эффективности использования консервативного BRICHOS-домена в качестве поискового маркера для выявления новых семейств защитных пептидов, аминокислотные последовательности зрелых форм которых не обладают высокой степенью гомологии с известными представителями данного класса молекул. Практическая значимость исследования связана с выявлением природных антимикробных пептидов и созданием их рационально сконструированных аналогов, перспективных в качестве прототипов новых антибактериальных препаратов. Принципиально важным результатом является сохранение эффективности *in vivo* пептида Ap9 в отношении *mcr-1*-положительного штамма *E. coli*, устойчивого к полимиксинам. С учетом критической роли этих препаратов в терапии инфекций, вызванных мультирезистентными грамотрицательными бактериями, полученные данные свидетельствуют о высоком прикладном потенциале данного пептида. Таким образом, проведенная работа создает научную основу для дальнейшей оптимизации и доклинического изучения соединений данного класса.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов

Представленный в диссертации экспериментальный материал обладает достаточным объемом и убедительно обосновывает сформулированные автором научные положения и выводы. Достоверность данных подтверждается их воспроизводимостью, использованием соответствующих контрольных соединений, а также корректной статистической обработкой. Особое внимание заслуживает подтверждение эффективности наиболее перспективных антимикробных пептидов *in vivo* на экспериментальных моделях бактериальных инфекций у мышей. Это придает представленным данным дополнительную убедительность и свидетельствует о комплексном характере выполненной работы. По теме диссертации опубликовано 7 статей в российских и зарубежных рецензируемых научных журналах, в которых достаточно полно отражены

результаты выполненного исследования. Один из результатов защищен патентом Российской Федерации на изобретение № 2812977 «Бета-шпилечный пептид, обладающий антимикробной активностью в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью», что дополнительно подтверждает практическую значимость проделанной работы.

Вместе с тем при общей положительной оценке диссертационной работы следует остановиться на отдельных вопросах, возникших при ознакомлении с ее содержанием.

Замечания и вопросы к диссертационной работе

1. Рис. 9. Приведены только карты плазмид. Дополнительная линейная схема сборки сделала бы описание более наглядным.
2. Хотя клеточные линии HEK293 и HaCaT не являются опухолевыми, а иммортализованными, на мой взгляд, было бы интересно исследовать цитотоксичность в отношении первичных клеток человека (например, фибробластов), что важно для оценки системной безопасности.
3. Модель тестирования на животных практически не описана ни в разделе «Материалы и методы», ни в разделе «Результаты и обсуждение». Понятно, что эти работы проводились в специализированном виварии, однако, более делальное описание модели было бы интересно для читателя.
4. Во многих экспериментах (антибиопленочная активность, МТТ-тест, гемолиз, индукция резистентности) не указано число независимых повторов (n), не поясняется, что означают планки погрешностей (SD или SEM), и не применяются поправки на множественные сравнения. Для ряда рисунков (например, рис. 37–39) отсутствует информация о критериях статистической значимости, что затрудняет оценку достоверности различий.

Отмеченные вопросы и замечания носят преимущественно уточняющий и дискуссионный характер и не влияют на общую положительную оценку выполненной работы.

Заключение

Проведенное Сафроновой Викторией Николаевной исследование представляет собой целостную и завершенную работу, выполненную на высоком научном и методическом уровне. По совокупности представленных результатов диссертационная работа «Поиск и характеристика новых BRICHOS-ассоциированных антимикробных

пептидов» полностью соответствует критериям (в том числе п. 9), установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335; 02.08.2016 г. №748; от 29.05.2017 г. №650; 20.03.2021 г. №426; 11.09.2021 г. №1539), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – Биоорганическая химия.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук, доцент, заместитель генерального директора по научной работе, заведующий лабораторией генной инженерии отдела клеточной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М.Лопухина ФМБА России)

Лазарев Василий Николаевич

Контактные данные:
Тел.: +7(916)635-24-55 , e-mail: lazarev@rcpcm.org
Адрес места работы:
119435, Россия, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1

Данные Лазарева В.Н. подтверждаю
Ученый секретарь
ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России
кандидат биологических наук /Е.С.Кострюкова/

Дата: «09» октября 2026 г.