

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Кудряковой Ирины Валерьевны
«Биогенез везикул *Lysobacter* sp. XL1»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности «03.01.04 - Биохимия»

Работа Кудряковой И.В. посвящена исследованию биогенеза везикул *Lysobacter* sp. XL1, а также участию в нем белка Л5 и фосфолипидов внешних мембран. Актуальность этой темы обусловлена не только расширением фундаментальных представлений о закономерностях этого процесса и факторах, его определяющих, но и высоким прикладным потенциалом в области создания инновационных антимикробных препаратов.

Для достижения выбранной цели и поставленных научных задач, диссертантом была запланирована и проведена сложная и многоступенчатая экспериментальная работа, включающая подходы и методы классической микробиологии, структурной биологии, биохимии, а также элементы доклинических исследований эффективности лекарственных препаратов на животных. Кудрякова И.В. детально охарактеризовала фракции везикул, формируемых *Lysobacter* sp. XL1, установила особенности локализации белка Л5 и связала его с секрецией во внешнюю среду с везикулами 30 – 65 нм в диаметре. С использованием рекомбинантного штамма *Pseudomonas fluorescens* Q2-87/B была показана вовлеченность белка Л5 в процесс формирования везикул и продемонстрирован антимикробный потенциал везикул, несущих белок Л5. В опытах с двумерной тонкослойной хроматографией диссертант исследовала роль фосфолипидов в биогенезе везикул *Lysobacter* sp. XL1, установила значимую роль кардиолипина в этом процессе. Белок Л5 был структурно и функционально охарактеризован в сравнении с гомологом Л1. Результатом явилась идентификация доменов Л5, которые потенциально несут ключевую функциональную нагрузку, и установление способности Л5 формировать амилоидоподобные структуры, на основе чего было предложено объяснение сохранности собственного пептидогликана бактерии при секреции Л5. Нужно отметить, что способность бактериальных литических ферментов формировать подобные структуры была показана впервые. Кудрякова И.В. также охарактеризовала специфичность литической протеазы Л5 и сконструировала антимикробные препараты, используя два подхода: комбинацию Л5 с экзополисахаридом *Lysobacter* sp. XL и включение Л5 в липосомы на основе фосфолипидов везикул. В спот-тестах с использованием бактерий родов *Staphylococcus* и *Bacillus*, а также в моделях системного сепсиса на мышах, вызванного MRSA штаммом *Staphylococcus aureus*, были получены многообещающие результаты, свидетельствующие в пользу перспективности сконструированных антимикробных препаратов.

Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне. Особенно обращает на себя внимание умение автора осваивать и использовать экспериментальные методики различных областей специализации, а также взвешенный аналитический подход к результатам экспериментов. Представленный материал изложен логично и легко воспринимается.

При ознакомлении с авторефератом возникли следующие замечания и вопросы дискуссионного характера:

1. В ряде экспериментов отсутствует статистическое сравнение экспериментальных и контрольных групп, которое стало бы хорошим дополнением к присутствующей описательной статистике. Кроме того, в таблице 5 автореферата не приведены данные по внутригрупповому разбросу параметров. Насколько он велик для каждого из параметров?

2. Почему для изучения биогенеза везикул был использован рекомбинантный штамм *Pseudomonas fluorescens* Q2-87/B, а не *Lysobacter* sp. XL1, который является основным субъектом исследования?

3. При разделении везикул в градиенте плотности сахарозы, имеющем целью подтверждение гетерогенности везикул *Lysobacter* sp. XL1, автор установил, что большая

часть везикул находится в 30% и 35% агарозе. Это количественное соотношение фракций. А каково отношение суммарных масс или объемов везикул в этих фракциях?

4. В разделе "Характеристика фракций везикул" на странице 8 говорится в лишь о фракциях 1 и 2, что вводит в заблуждение, так как фактически были исследованы все четыре фракции.

5. На страницах 13-14 автореферата делается предположение, что белок Л5 "... оказывает давление на внутреннюю сторону внешней мембраны ...". Какого рода это давление, механическое? Какие факты говорят в поддержку этой модели?

Необходимо отметить, что приведенные замечания и вопросы носят дискуссионный характер и не снижают ценность представленной работы.

Диссертационная работа Кудряковой Ирины Валерьевны «Биогенез везикул *Lysobacter* sp. XL1» соответствует п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, с изменением Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года №335, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «03.01.04 - Биохимия».

Клетенков Константин Сергеевич
ведущий инженер, Ph.D. (к.б.н.)
Научно-образовательный центр фармацевтики
Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
420008, Россия, Татарстан Респ.,
г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18
Тел.: +7 (843) 292-69-77
Эл. почта: konstantin.kletenkov@gmail.com

Клетенков
« 10 » мая 2017 г.
Клетенков К.С.

Подпись Клетенкова К.С. заверяю

