

## ОТЗЫВ

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

Диссертационная работа И.В. Кудряковой представляет собой комплексное исследование, посвященное изучению внешнемембранных везикул и секретируемых бактериолитических ферментов грамотрицательной бактерии *Lysobacter* sp. XL1.

Основные проблемы, затрагиваемые в обсуждаемой работе, связаны с установлением факторов, обуславливающих биогенез везикул, структурно-функциональной характеристике гомологичных литических ферментов Л1 и Л5, разработкой подходов для конструирования антимикробных препаратов на основе фермента Л5. Очевидно, что решаемые в диссертационном исследовании задачи являются актуальными как для фундаментальной биохимии, так и для прикладной биомедицины.

Диссертантом проведена большая экспериментальная работа для решения поставленных задач. Были установлены два фактора биогенеза везикул *Lysobacter* sp. XL1 – литическая протеаза Л5 и кислый фосфолипид кардиолипин – которые ранее не рассматривались как участники везикулообразования грамотрицательных бактерий. На основании этих данных предложена схема биогенеза везикул у *Lysobacter* sp. XL1. Интересный результат был получен при изучении структурно-функциональных особенностей литической протеазы Л5. В пространственной структуре выявлены два домена, отличные от эквивалентных доменов гомологов: белка Л1 и  $\alpha$ -литической протеазы *Lysobacter enzymogenes*. Дальнейшее изучение структурных особенностей может позволить ответить на ряд важных вопросов, касающихся функционирования Л5 и особенностей его топогенеза. Установлено, что в пептидогликане стафилококка фермент Л5 разрушает связь между N-ацетилмурамовой кислотой и первой аминокислотой пептидной субъединицы, а также в межпептидном мостике. Впервые показана способность протеазы Л5 к формированию амилоидов, что позволяет объяснить не только его нахождение в периплазме бактерии без нарушения жизненных свойств последней, но и влияние этого белка на биогенез везикул. Способность к формированию упорядоченных амилоидных структур ранее не была известна для внеклеточных бактериолитических ферментов. Эти данные дополняют знания о литических внеклеточных белках, о которых в настоящее время известно мало. Все полученные результаты являются новыми и представляют несомненную научную ценность.

Следует выделить очевидную прикладную значимость работы. Начаты разработки подходов к созданию антимикробных препаратов нового поколения на основе литического белка Л5 *Lysobacter* sp. XL1. Получены два лабораторных образца антимикробных препаратов эффективных против грамположительных бактерий, в том числе множественноустойчивых форм. Показано лечебное действие одного из них в отношении стафилококкового сепсиса, вызванного штаммом MRSA, у мышей. В результате применения антимикробного препарата происходило снижение обсемененности почек экспериментальных животных на два порядка. Этот результат является особенно ценным при существующей мировой проблеме множественной устойчивости возбудителей инфекций к антибиотикам. Полученные результаты могут

быть использованы для дальнейшей разработки высокоэффективных препаратов на основе отдельных литических ферментов *Lysobacter* sp. XL1.

По данной работе имеются следующие замечания:

— из текста автореферата не ясно, какими методами осуществлялся статистический анализ полученных экспериментальных данных и проводилась ли оценка адекватности предложенной автором модели биогенеза везикул реальному процессу математическими методами;

— при обсуждении результатов литического действия препарата везикул Q2-87/B в отношении патогенных бактерий (стр. 12, рис. 6 автореферата) говорится о сопоставимости их с действием везикул *Lysobacter* sp. XL1, однако, не приводятся никаких исчисляемых показателей, подтверждающих данный факт.

Высказанные замечания не имеют принципиального характера и не снижают достоинства работы, следует подчеркнуть, что работа выполнена на высоком научном и методическом уровне. Обоснованность сформулированных выводов не вызывает сомнения. Основные положения диссертационной работы отражены в шести публикациях в научных рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК, и апробированы на международных и российских конференциях.

Диссертационная работа Кудряковой И.В. является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методическом уровне, имеет теоретическое и практическое значение, вносит вклад в решение актуальных задач современной биохимии. Работа полностью 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 ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Научный сотрудник лаборатории микробиологии  
Федерального бюджетного учреждения науки  
«Нижегородский научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека, доктор биологических наук

Кряжев Д.В.

Подпись Кряжева Д.В. заверяю  
Заместитель директора ФБУН НИИЭМ по научной работе  
д.б.н., проф.



Григорьева Г.И.

«18» мая 2017 г.

603950, г. Нижний Новгород,  
ул. Малая Ямская, д. 71  
телефон: 8(831)469-79-41  
e-mail: micbiol2008@yandex.ru