

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Графской Екатерины Николаевны «Антимикробные пептиды секрета слюнных клеток медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 — Биохимия.

Диссертационная работа Графской Е.Н. посвящена поиску новых антимикробных пептидов (АМП) секрета слюнных клеток (ССК) *H. medicinalis* и изучению их структурно-функциональных свойств. В связи с возникновением и широким распространением резистентных к антибиотикам патогенных микроорганизмов, АМП рассматриваются как новый перспективный класс противомикробных средств, что делает данное диссертационное исследование особенно важным и перспективным.

На начальных этапах работы автором был разработан алгоритм для целенаправленного поиска АМП, включающий как предсказание структурных свойств пептидов, так и их антимикробного потенциала с использованием онлайн предикторов. Идентифицированные таким образом кандидатные АМП были синтезированы и разносторонне изучены.

Диссертантом были исследованы такие свойства АМП *H. medicinalis* как антимикробная, гемолитическая и цитотоксическая активности. Исследование этих активностей является необходимым этапом оценки эффективности и потенциального использования препарата. Изучение антимикробных свойств АМП на примере бактерий *E. coli*, *B. subtilis* и *S. trachomatis* позволило диссертанту выявить два пептида 3967 и 536_1, которые обладают выраженным антимикробным действием в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Гемолитическая активность АМП была исследована по степени гемолиза эритроцитов человека после инкубации с пептидами в различной концентрации. В свою очередь цитотоксичность кандидатных АМП была оценена в отношении клеток млекопитающих по количеству жизнеспособных мышинных фибробластов линии McCoу после инкубации с пептидами. На этом этапе хотелось бы сделать небольшое замечание. Как известно, основным недостатком известных АМП является их токсичность по отношению к клеткам эукариот. Автором была изучена гемолитическая и цитотоксическая активности идентифицированных пептидов, однако, подобное исследование представляется не полным. Так, вызывает интерес цитотоксическое действие АМП в отношении других типов клеток, с которыми они могли бы контактировать при их использовании в качестве терапевтических агентов, к примеру, эпителиальными или иммунными клетками.

В работе также проводили структурные исследования пептидов. Как отмечает автор, для большинства АМП характерно образование α -спиральной структуры. В работе соискателя для анализа вторичной структуры кандидатных АМП были выбраны пять пептидов: 3967, 536_2, 12530, 756 и 9332. На основании структурных исследований, выполненных методом ЯМР-спектроскопии в водных растворах и в присутствии додецилфосфатидилхолиновых (ДФХ) мицелл, которые имитируют мембранное окружение, автор установил, что три АМП (3967, 536_2, 12530) формируют α -спираль в присутствии мицелл, в то время как 756 и 9332 не имеют упорядоченной вторичной структуры, как в водном, так и в мицеллярном окружении. Ввиду такого отличия в структурных свойствах АМП возникает вопрос, есть ли связь между вторичной структурой пептидов и их антимикробной, гемолитической и цитотоксической активностью?

Возникающие вопросы и комментарии ни в коей мере не умаляют значимости и высокого уровня выполнения научной работы, что подтверждается наличием публикаций в авторитетных международных журналах. Стоит так же отметить, что диссертационное исследование содержит результаты, отличающиеся новизной, теоретической и практической значимостью. В работе был использован широкий спектр современных методов исследования,

начиная от биоинформатического анализа генома и протеома *ССК Н. medicinalis* для поиска потенциальных антимикробных пептидов до последующего получения целого набора пептидов и изучения их различных свойств. Достоверность полученных результатов не вызывает никаких сомнений, данные обработаны с применением адекватных статических методов, во всех экспериментах присутствуют все необходимые контроли. Автореферат отлично структурирован, прекрасно написан и содержит иллюстрации, значительно облегчающие восприятие данных.

Таким образом можно заключить, что диссертационная работа Графской Е.Н. является законченным научным исследованием и соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а сам диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 — Биохимия.

Научный сотрудник лаборатории структурной биохимии белка
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»,
кандидат биологических наук по специальности
03.01.04 — Биохимия

119071 Российская федерация, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2
Тел.: +7 (495) 952-13-84
Электронная почта: viktoriya-neff@mail.ru

Нефёдова Виктория Викторовна

Подпись к.б.н. Нефёдовой В.В. заверяю:

Ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного учреждения
«Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук,

к.б.н.

Орловский Александр Федорович

«13» мая 2021

