

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Центр теоретических проблем
физико-химической фармакологии

Российской академии наук

докт. физ.-мат. наук., профессор РАН,
член-корр. РАН

Пантелеев М.А.

Пантелеев
« 29 » апреля 2021 г.



ОТЗЫВ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук о научно-практической значимости диссертации Графской Екатерины Николаевны на тему «Антибиотические пептиды секрета слюнных клеток медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 — Биохимия.

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Екатерины Николаевны посвящена поиску и изучению методами биохимии, геномики и протеомики новых пептидов секрета слюнных желез медицинской пиявки *H. medicinalis*., обладающих антибиотическим действием. Получение новых антибиотических пептидов (АМП) актуально в связи с их широким спектром действия, позволяющим рассматривать их в качестве потенциальных терапевтических агентов. Кроме того, изучение структурно-функциональных свойств АМП важно с точки зрения фундаментальной науки для понимания взаимосвязи состава и структуры пептида и его функции.

Научная новизна исследования

В диссертации Е.Н. Графской впервые была определена и аннотирована нуклеотидная последовательность генома *H. medicinalis*. Впервые был проанализирован протеом нативного секрета слюнных клеток *H. medicinalis*.

В ходе работы были обнаружены и описаны новые пептиды *H. medicinalis*, обладающие антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, низкой гемолитической активностью и не проявляющие цитотоксического эффекта по отношению к клеткам млекопитающих. Охарактеризована вторичная структура пептидов методом ЯМР-спектроскопии и проанализированы их механизмы действия.

Достоверность научных результатов

Результаты диссертации Графской Е.Н. получены на современном оборудовании согласно стандартным методикам с использованием готового программного обеспечения и самостоятельно написанных скриптов на двух языках программирования (R, Python). Эксперименты проведены с достаточным количеством повторов, результаты статистически обработаны. Полученные данные обсуждены автором с использованием актуальных литературных источников. Достоверность и обоснованность выводов исследования не вызывает сомнения.

Значимость полученных результатов

Диссертационная работа Е.Н. Графской представляет собой несомненный практический интерес. АМП, впервые описанные в данной работе, могут найти практическое применение, так как не обладают цитотоксическим действием по отношению к клеткам млекопитающих и проявляют низкую гемолитическую активность. Кроме того, оптимизированный в ходе выполнения работы биоинформационический

алгоритм по поиску АМП может быть применен для анализа ядов животных и последующей идентификации потенциальных противомикробных молекул.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты и выводы диссертации могут быть востребованы в научных учреждениях, выполняющих фундаментальные постгеномные исследования. К таким организациям относятся ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН, Институт биоорганической химии им. Акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ и другие научные учреждения.

Количество печатных работ

По теме диссертации опубликовано 26 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в международную базу данных Web of Science, 21 тезис в материалах российских и международных конференций. Содержание опубликованных автором оригинальных работ полностью отражает основные положения диссертации.

Содержание диссертации

Диссертационная работа Е.Н. Графской имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Диссертация изложена на 119 страницах машинописного текста, включает 16 таблиц и 24 рисунка.

Во введении автор раскрывает актуальность темы исследования, формулирует цели и задачи диссертационной работы, обосновывает научную новизну и практическую значимость работы. Цель исследования заключалась

в идентификация новых антимикробных пептидов ССК *H. medicinalis* и изучении их структурно-функциональных свойств.

Обзор литературы посвящен структурной организации АМП различных животных, а также их механизмам действия. Приводятся сведения об актуальных компьютерных подходах идентификации АМП. Кроме того, дано детальное описание объекта исследования — медицинской пиявки *H. medicinalis*. Описано полифункциональное действие секрета слюнных клеток *H. medicinalis*. Особенный акцент сделан на АМП пиявок, которые были известны до настоящей работы.

В разделе «Материалы и методы» подробно описаны экспериментальные и биоинформационные методы, применяемые в работе. Разнообразие методов, используемых в работе, позволяет сделать вывод о том, что работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современных аналитических и биоинформационических методов.

Далее описаны основные результаты исследования, сгруппированные в соответствии с поставленными задачами. Отдельная глава посвящена обсуждению результатов, в которой представлена интерпретация полученных результатов и их сравнение с имеющимися данными мирового научного сообщества. По результатам работы сформулировано 5 выводов, которые полностью соответствуют полученным в работе результатам. Список литературы включает 293 литературных источника, среди которых значительную часть составляют работы последних лет. Представленная диссертационная работа является законченным научно-исследовательским трудом и выполнена на высоком экспериментальном уровне.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями ВАК. В целом, диссертационная работа безусловно является важным и оригинальным научным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне.

Принципиальных замечаний по содержанию диссертации, полученных результатов и содержанию выводов не имеется. При прочтении диссертационной работы возникли следующие вопросы рекомендательного и технического характера:

1. В обзоре литературы и обсуждении результатов при описании антикоагулянтного и антиагрегаторного действия секрета слюнных клеток допущены некоторые неточности.
2. Недостаточно подробно описан метод анализа белкового состава секрета методами протеомики: как проводится учет потенциальных посттрансляционных модификаций пептидов?
3. Недостаточно подробно описан метод оптимизации биоинформационического алгоритма: какие критерии использовались для выбора лучшего алгоритма?
4. После прочтения раздела «Материалы и методы» остается неясным, какие пептиды использовали для определения антимикробной активности – нативные или синтезированные.
5. Как следует из п. 3.6. раздела «Результаты», анализ биологической активности проводился для синтезированных пептидов. Однако, остается неясным, как именно было показано их соответствие нативным.
6. Работа содержит незначительное количество опечаток несогласованных предложений и неподдержаных ссылками на литературу утверждений.

Заключение

Диссертация «Антимикробные пептиды секрета слюнных клеток медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, имеющей существенное научное и практическое значение для глобальной проблемы антибиотикорезистентности.

По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Графской Е.Н. «Антимикробные пептиды секрета слюнных клеток медицинской пиявки *Hirudo medicinalis*» соответствует требованиям, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (ред. от 01.10.2018, с изм. от 26.05.2020), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - Биохимия.

Отзыв на диссертацию Графской Екатерины Николаевны обсужден на заседании ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук (протокол № 5 от «29» апреля 2021 г.).

Зав.лаб. внутриклеточной сигнализации и системной биологии

Доктор физ.-мат. наук

Свешникова Анастасия Никитична

Адрес: 109029, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, д. 30

Email: Info@ctppcp.ru Тел.: 8 (495) 678-31-16

Подпись д.ф.-м.н., Свешниковой А.Н. заверяю

Ученый секретарь Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Центр теоретических проблем
физико-химической фармакологии Российской академии наук

к.б.н.

Кольцова Екатерина Михайловна

« 29 » апреля 2021 г.

