

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации академик РАН, д.м.н., профессор



И.А. Дятлов

«10» августа 2018 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Диссертация «Капсулоспецифичные бактериофаги и их полисахарид-деградирующие ферменты, активные в отношении гипермукоидных штаммов *Klebsiella pneumoniae*» выполнена в лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Соловьева Екатерина Владимировна работала в Федеральном бюджетном учреждении науки

«Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», в лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии в должностях стажера-исследователя и младшего научного сотрудника.

В июне 2014 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинский государственный университет» по специальности «Биология». В октябре 2014 г. была прикреплена в качестве соискателя для выполнения диссертационной работы в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2017 г. Федеральным бюджетным учреждением науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации.

Научный руководитель: кандидат биологических наук Воложанцев Николай Валентинович, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Соловьевой Е.В. является завершенной научно-квалификационной работой, в которой представлены новые данные о капсулоспецифичных бактериофагах и их полисахарид-деградирующих ферментах, активных в отношении гипермукоидных штаммов *Klebsiella pneumoniae*. Работа соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства

РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертационная работа Соловьевой Е.В. соответствует отрасли науки «Биологические науки» и паспорту специальности 03.02.03 – «Микробиология» в областях исследований по пунктам 1 – «Проблемы эволюции микроорганизмов, установление их филогенетического положения», 2 - «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 3 - «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов», 10 – «Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине».

Совместно с руководителем к.б.н. Воложанцевым Н.В. соискатель определил цели и задачи исследования, методику и дизайн экспериментов, а также подготовил материалы к публикации. Личное участие автора заключалось в анализе научной литературы, в выполнении микробиологических, молекулярно-генетических экспериментов, в анализе полученных результатов, в представлении устных и постерных докладов на конференциях. Отдельные разделы работы выполнены в сотрудничестве с к.м.н Борзиловым А.И., к.б.н. Коробовой О.В. и к.б.н. Комбаровою Т.И., к.б.н. Вережкиным В.В., к.б.н. Красильниковой В.М., к.б.н. Мочаловым В.В. и Мякининой В.П. Детекция генов вирулентности и резистентности проведена Лев А.И. Секвенирование ДНК проведено сотрудниками отдела коллекционных культур ФБУН ГНЦ ПМБ. Определение структуры капсульных полисахаридов *K. pneumoniae* и фрагментов ферментативного расщепления полисахаридов проведено в лаборатории химии углеводов Института органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН) под руководством проф. Ю.А. Книреля.

Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается тем, что они получены на сертифицированном оборудовании, с использованием современных микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических, биологических, биоинформационных и статистических методов исследований; показана воспроизводимость результатов в разных условиях экспериментов.

Новизна проведенных исследований состоит в получении данных о циркуляции гипермукоидных штаммов *K. pneumoniae* среди госпитальных изолятов крупных стационаров г. Москвы. Показано, что 12,6 % штаммов обладают гипермукоидным фенотипом и принадлежат к капсульным типам K1, K2 и K57. Выделены и полноценно охарактеризованы бактериофаги, лизирующие гипермукоидные штаммы *K. pneumoniae* капсульных типов K1, K2 и K57. Бактериофаги, специфичные для *K. pneumoniae* капсульного типа K57, выделены и описаны впервые. Впервые клонированы, выделены и охарактеризованы K2- и K57-специфичные фаговые полисахарид-деполимеразы Der_kpv74 и Der_kpv79. Установлен механизм действия ПС-деполимераз: оба фермента являются представителями класса гидролаз и катализируют расщепление O-гликозидной связи в сахарах. Проведенные исследования показали, что ПС-деполимераза Der_kpv74 обладает «антивирулентной» активностью и обеспечивает терапевтический эффект при лечении инфекций, вызванных гипермукоидным штаммом *K. pneumoniae* у мышей (продемонстрировано на двух инфекционных моделях).

Практическая значимость работы заключается в создании коллекции бактериофагов, специфически лизирующих клинические изоляты *K. pneumoniae*, в т.ч. обладающие гипермукоидным фенотипом; депонировании в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» 17 бактериофагов, лизирующих *K. pneumoniae*; размещении в международную базу данных GenBank полных нуклеотидных последовательностей генома исследованных бактериофагов; использовании результатов диссертационного исследования в отделении нейрореанимации ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ для капсулотипирования клинических штаммов *K. pneumoniae* на основании ПЦР-детекции генов капсулообразования и использования капсулоспецифичных бактериофагов и рекомбинантных фаговых ПС-деполимераз (Акт внедрения результатов диссертационной работы от 23.07.2018) и в рамках образовательной программы дополнительного профессионального образования «Бактериология.

Основы биологической безопасности и практика работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности» при ФБУН ГНЦ ПМБ.

Материалы диссертации изложены в 18 опубликованных соискателем научных работах, включающих 5 статей в зарубежных реферируемых научных журналах и 13 тезисов в материалах международных и Всероссийских научных конференций.

Диссертация «Капсулоспецифичные бактериофаги и их полисахарид-деградирующие ферменты, активные в отношении гипермукоидных штаммов *Klebsiella pneumoniae*» Соловьевой Екатерины Владимировны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Заключение принято на заседании межлабораторного научного семинара Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации. Присутствовало на заседании 28 чел. Результаты голосования: «за» - 28 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 54 от 20 июля 2018 г.



доктор биологических наук, профессор
Шемякин Игорь Георгиевич,
заместитель директора по научной
работе Федерального бюджетного
учреждения науки «Государственный
научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в
сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека Российской
Федерации