



**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Оренбургский федеральный исследовательский центр  
Уральского отделения Российской академии наук  
(ОФИЦ УрО РАН)

**ИНСТИТУТ КЛЕТОЧНОГО И ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СИМБИОЗА**  
Уральского отделения Российской академии наук  
(ИКВС УрО РАН)

460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11  
тел.: (3532) 77-54-17, факс (3532) 77-44-63; E-mail: [icis-ofrc@list.ru](mailto:icis-ofrc@list.ru)

---

---

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента доктора биологических наук, доцента Карташовой Ольги Львовны на диссертацию Ремизова Евгения Кирилловича «Антимикробная активность пептидов, выделенных из насекомых, и перспектива их использования в качестве противомикробных препаратов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных

### **Актуальность темы диссертации**

Эволюция антимикробной резистентности и недостаточное количество новых антибиотиков, разрешенных к применению, увеличивают риск более широкого распространения полирезистентных микроорганизмов. Сложившаяся ситуация заставляет ученых изыскивать альтернативные антибиотикам антимикробные средства.

В этом смысле перспективной группой соединений являются пептидные антибиотики животного происхождения, которые выгодно отличает широкий спектр антимикробной активности, весьма низкая вероятность развития резистентности у патогенов в силу особенностей молекулярного механизма бактерицидного действия и отсутствие побочных эффектов. Фундаментальные исследования молекулярных механизмов действия указанных соединений, получивших название антимикробные пептиды (АМП), тесно связаны с прикладными разработками, поскольку они могут стать прототипами лекарственных средств, в частности, антибиотиков широкого спектра действия.



Следует отметить, что исследования и разработка новых терапевтических средств были включены в число приоритетных предлагаемых мер по борьбе с глобальным феноменом устойчивости к противомикробным препаратам.

В связи с вышеизложенным, тема диссертационного исследования Ремизова Е.К. является безусловно актуальной, поскольку поиск и изучение механизмов биологической активности антимикробных пептидов животного происхождения дают чрезвычайно богатый материал для создания лекарственных препаратов нового поколения.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Основные научные положения, выводы и практические предложения, представленные в диссертации Ремизовым Е.К., сформулированы, исходя из результатов тщательно проведенных микробиологических, молекулярно-биологических, биохимических и микроскопических исследований и не вызывают возражений.

Достаточный объем фактического материала, полученного с использованием арсенала адекватных и современных методов исследования, корректная статистическая обработка полученных данных и их всесторонний, в том числе математический, анализ, позволили Ремизову Е.К. решить поставленные в работе задачи и достичь заявленной цели.

Таким образом, четкий дизайн проведенных исследований, использование в работе комплексного методологического подхода, большой пул экспериментальных данных, полученный с применением современных методов исследования, корректная статистическая обработка имеющихся результатов и их логичная интерпретация позволяют считать сформулированные в диссертации научные положения, выводы и рекомендации, вполне обоснованными.

### **Достоверность и новизна выводов и результатов диссертационного исследования**

Достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации, определяется значительным объемом проведенных исследований, а также использованием представительного спектра современных микробиологических и физико-химических методов анализа. Выборки статистически репрезентативны, а математическая обработка результатов выполнена с использованием адекватных методов статистического анализа.

Оценивая новизну исследования, представляется необходимым отметить следующие моменты: для выполнения запланированных исследований Ремизовым Е.К. разработана оригинальная методика выделения водорастворимых пептидов из биомассы личинок насекомых. Изучены физико-



химические свойства и установлено антимикробное действие впервые полученных 15 пептидов в отношении ряда патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, среди них выявлены наиболее эффективные. Экспериментальные исследования *in vivo* на белых мышах позволили автору, во-первых, отнести выделенные антимикробные пептиды к малоопасным веществам, а во-вторых, показать локализацию пептидов в организме при разных способах заражения с помощью люминесцентной микроскопии.

### **Значимость для науки и практики полученных результатов**

Результаты диссертационной работы имеют существенное значение для науки и практики. Научная значимость исследования определяется получением новых знаний об антимикробных пептидах, выделенных из насекомых, механизме их метаболизма в организме экспериментальных животных. Предложена оригинальная схема получения АМП из биомассы личинок насекомых *G. mellonella*, *M. domestica*, *H. illucens*. Подобраны экспериментальные композиции пептидов, обладающие выраженной антимикробной активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Проведенные Ремизовым Е.К. исследования не только расширяют научные представления о свойствах пептидов, выделенных из насекомых, но и могут служить основой для разработки технологии и внедрения в практику противoinфекционных препаратов нового поколения, с низкой вероятностью появления резистентных к ним штаммов патогенов. На разработанную автором оригинальную схему получения композиции антимикробных пептидов из личинок мухи домашней получен патент РФ на изобретение.

### **Оценка содержания диссертации, ее завершенность**

Диссертационная работа Е.К. Ремизова оформлена согласно требованиям ВАК и включает введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, список литературы и приложения. Работа изложена на 115 страницах, иллюстрирована 26 рисунками и 19 таблицами. Список литературы включает в себя 201 источник, в том числе 177 иностранных.

Сформулированные в диссертации выводы, положения, выносимые на защиту, и практические рекомендации логично вытекают из представленных данных. Диссертация носит внутренне целостный и завершенный характер.

В главе «Введение» автором кратко и четко обоснована актуальность проведенного исследования; указаны цель и задачи работы; охарактеризована методология и методы исследования, апробация результатов и личное участие автора; изложены положения, выносимые на защиту; раскрыта научная новизна исследования; теоретическая и практическая значимость работы.



В главе «Обзор литературы» проведен детальный анализ данных отечественной и зарубежной литературы, который свидетельствует об актуальности определенной в диссертации проблемы и обоснованности задач исследования. Обзор структурирован, содержит анализ литературы по вопросам разнообразия АМП, механизму их действия, перспективам использования антимикробных пептидов и препаратов на их основе для профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний и лечения животных.

В главе «Собственные исследования» подробно описаны основные методические приемы, использованные автором в ходе выполнения работы.

В главе «Результаты исследований и их обсуждение» представлена разработанная автором оригинальная методика выделения пептидов из биомассы личинок насекомых, состоящая из гомогенизации, экстракции, центрифугирования, многократного высаливания сульфатом аммония, повторного растворения. Данные, полученные в ходе проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии, позволили автору разделить белковые фракции, а подобранные условия хроматографирования максимально полноценно извлечь водорастворимые пептиды из личинок *G.mellonella*, *M. domestica*, *H. illucens* и приготовить экспериментальные серии пептидов биомассы насекомых. В результате изучения антимикробной активности макрометодом установлено, что пептиды № 2.3 и 2.6, выделенные из биомассы личинок *G. mellonella* ингибируют рост штамма *S. aureus* 6538 (209-P), пептид № 2.6 – *S. typhimurium* 1626, *B. cereus* ATCC 10702, *E. coli* 1027. При изучении антимикробной активности пептидов 3.1-3.7, выделенных из биомассы личинок *G. mellonella*, было выявлено, что антимикробной активностью в отношении штамма *S. aureus* 6538 (209-P) обладают пептиды № 3.4 и 3.6. Пептиды № 3.2 и 3.6 ингибировали рост штаммов *S. typhimurium* 1626 и *B. cereus* 10702, кроме этого пептид 3.2 ингибировал рост *E. coli* 1027. При изучении белковой фракции 2, выделенной из биомассы личинок *M. domestica*, установлено ее влияние на все изученные штаммы. Тогда как пептид 4.2 ингибировал рост *B. cereus* ATCC 10702 и *S. typhimurium* 1626 в концентрации 0,625 мг/л, а *E. coli* 1027 в концентрации 10 мг/л и был индифферентен в отношении *S. aureus* 6538 (209-P). Пептид № 6.1 ингибировал рост *B. cereus* 10702 в концентрации 0,625 мг/л и был индифферентен по отношению к *S. aureus* ATC 6538 (209-P) и *E. coli* 1027.

Изучение антимикробной активности диффузным методом позволило Ремизову Е.К. выявить антимикробную активность пептидов, полученных из биомассы личинок *G. mellonella*. Автором установлено, что наиболее эффективно пептид 1.2 действовал на *S. typhimurium* 1626, а в концентрации 0,625 мг/л максимально задерживал рост *E. coli* 1027.

Экспериментальные исследования *in vivo* на белых мышах позволили автору, во-первых, отнести выделенные антимикробные пептиды к малоопасным веществам, а во-вторых, показать локализацию пептидов в орга-



низме при разных способах заражения с помощью люминесцентной микро-  
скопии.

В заключении подведены основные итоги диссертационного исследо-  
вания, проведен анализ и обозначена их значимость для ветеринарной науки  
и практики. Выводы обоснованы полученными результатами и соответству-  
ют поставленной цели и задачам диссертационного исследования. Даны ре-  
комендации о перспективах использования и внедрения полученных резуль-  
татов в ветеринарную практику.

Сформулированные в диссертации выводы, положения, выносимые на  
защиту, и практические рекомендации логично вытекают из представленных  
данных. Диссертация носит внутренне целостный и заверченный характер.

Автореферат составлен в стандартной форме, соответствует требовани-  
ям и полностью отражает основные материалы и содержание диссертации.

Замечания по оформлению диссертации и автореферата, а также языку  
изложения отсутствуют.

Результаты исследования достаточно широко представлены в научных  
изданиях и неоднократно обсуждались на научных форумах разного уровня.  
Ремизовым Е.К. опубликовано 9 статей, из них 3 в журналах из перечня, ре-  
комендованного ВАК РФ, и 1 патент РФ на изобретение.

Оценивая положительно представленную диссертацию в целом, хоте-  
лось бы уточнить мнение автора по следующим вопросам, которые возникли  
при анализе фактического материала работы:

1. Обоснуйте выбор биологических объектов для получения антимик-  
робных пептидов.

2. Чем отличается Ваша технология получения пептидов от аналогич-  
ных?

3. Возможно ли на основе полученных результатов рекомендовать  
определенный вид насекомых как продуцентов антимикробных пептидов?

Заданные вопросы носят дискуссионный характер и не умаляют значе-  
ние результатов, полученных автором.

## **Заключение**

Диссертационная работа Ремизова Евгения Кирилловича «Антимик-  
робная активность пептидов, выделенных из насекомых, и перспектива их  
использования в качестве противомикробных препаратов», представленная к  
защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является  
законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится ре-  
шение актуальной научной задачи, связанной с получением антимикробных  
пептидов и изучением их биологических свойств, имеющей существенное  
значение для ветеринарии. Данная диссертационная работа характеризуется  
актуальностью, научной новизной, теоретической и практической значимо-  
стью, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присужде-



ния ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор – Ремизов Евгений Кириллович заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных.

Официальный оппонент,



Карташова Ольга Львовна

доктор биологических наук по специальности

03.00.07 – микробиология, доцент,

Институт клеточного и внутриклеточного

симбиоза УрО РАН – обособленное

структурное подразделение Федерального

государственного бюджетного

учреждения науки Оренбургского федерального

исследовательского центра Уральского

отделения Российской академии наук,

ведущий научный сотрудник лаборатории

персистенции и симбиоза микроорганизмов

Адрес ИКВС УрО РАН – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Оренбургского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел. (3532) 77-44-63; E-mail: [icis-ofrc@list.ru](mailto:icis-ofrc@list.ru), [labpersist@mail.ru](mailto:labpersist@mail.ru)

Подпись ведущего научного сотрудника ИКВС УрО РАН, доктора биологических наук, доцента О.Л. Карташовой заверяю.

Начальник отдела кадров ОФИЦ УрО РАН

И.В. Турленко

« 21 » февраля 2024 г.

