

Отзыв

официального оппонента

кандидата медицинских наук Поспеловой Светланы Валерьевны на диссертацию **Борисенко Андрея Юрьевича** «Молекулярно-генетический и биоинформационный скрининг вирулентных бактериофагов *Staphylococcus aureus* на основе анализа CRISPR/Cas-системы бактерии»

на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология

Актуальность темы диссертации

Staphylococcus aureus по-прежнему сохраняет лидирующие позиции как возбудитель широкого спектра заболеваний - от кожных инфекций до тяжелых септических состояний. Активное использование антибиотиков в практической медицине и некоторых отраслях сельского хозяйства наряду с положительными результатами привело и к активизации процесса формирования различных механизмов резистентности к антибактериальным препаратам у бактерии. Разработка новых поколений антибиотиков для лечения инфекций, вызванных *S. aureus*, дорогостоящий и длительный процесс с неясной перспективой. На фоне этой проблемы вновь актуальной альтернативой антибиотикам становится фаготерапия. Однако эффективность лечения бактериофагами зависит от чувствительности бактериальных культур к лечебным штаммам бактериофагов, а классическое определение такой чувствительности представляет собой длительный процесс. Современные геномные и биоинформационные технологии позволяют целенаправленно моделировать процесс отбора высокоспецифичных и вирулентных фагов против патогенных микроорганизмов на основе геномных структур CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, «короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами») бактерий. Посредством CRISPR-системы бактерии распознают и эффективно расщепляют ДНК фагов, используя ферментную систему *Cas* (*CRISPR-associated*). Однако, CRISPR-система у золотистого стафилококка изучена недостаточно, поскольку в научных работах говорится о разном строении и даже отсутствии CRISPR-системы у этого вида (Cao *et al.*, 2016; Xihong *et al.*, 2018). Таким образом, актуальность темы диссертации **Борисенко Андрея Юрьевича** «Молекулярно-генетический и биоинформационный скрининг вирулентных бактериофагов *Staphylococcus aureus* на основе анализа CRISPR/Cas-системы бактерии» несомненна. Анализ имеющихся и получение новых данных о CRISPR-системе *Staphylococcus aureus* является шагом к созданию персонализированной фаговой терапии.

Достоверность и новизна исследований и полученных результатов

Значительный фактический материал, повторяемость выполненных исследований, адекватная современная обработка статистических данных свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Что касается новизны, то автором проведено изучение и анализ CRISPR-системы в геномах *S. aureus* из базы данных Genbank и сформированной коллекции при помощи биоинформационного программного алгоритма. Установлена и продемонстрирована гетерогенность строения CRISPR-локусов у *S. aureus*. В результате, в геномах *S. aureus* идентифицированы гены CRISPR-систем: I-A, II-A, III-A, IV-A, I-B. Также выявлено участие плазмид *S. aureus*, используемых в качестве дополнительных источников генов *cas* и CRISPR-кассет. Изучение степени защищенности бактерии позволило выявить CRISPR-касеты содержащих от 1 до 15 спейсеров разделенных разными повторяющимися последовательностями. При помощи биоинформационных программ удалось установить, что наибольшее генетическое влияние на анализируемые штаммы *S. aureus* оказывали бактериофаги рода *Staphylococcus* - 70%, *Streptococcus* - 67%, *Mycobacterium* - 67%, *Bacillus* - 54%, *Gordonia* - 53%, *Arthrobacter* - 23%, *Streptomyces* - 12%.

Обнаруженные CRISPR-касеты и гены *cas* в геномах *S. aureus* из базы NCBI данных при помощи биоинформационного программного алгоритма послужили платформой для синтеза детектирующих и фланкирующих праймеров. В результате автору удалось выявить наличие генов *cas* и выделить 45 CRISPR-кассет с последующим их секвенированием и оценкой устойчивости штаммов *S. aureus* к препаратам бактериофагов. Используемый автором биоинформационный алгоритм позволил расширить представления о проблеме устройства CRISPR-системы *S. aureus* и возможности применения его для изучения CRISPR-систем в других бактериях с целью создания персонализированной фаговой терапии.

Значимость для науки и практики

Интересен подход автора к решению поставленных задач – на высоком методическом уровне проведенные исследования геномов своих штаммов золотистых стафилококков и анализ аннотированных геномов из базы данных NCBI внесли новые данные в раздел структуры, устройства CRISPR-системы *S. aureus*, что представляет большую научную ценность.

Результаты исследования помогут обосновать новые подходы к анализу природы антагонистических взаимодействий бактерий и фагов, на основе которых могут быть получены новые знания о фундаментальной природе антагонизма между бактериями и фагами. Практическая значимость представляемого научного исследования будет особенно важна при разработке технологического алгоритма скрининга антибактериальных вирулентных фагов, которые могут стать основой создания новых высокоспецифичных фаговых препаратов нового поколения для фаготерапии, заменив или дополнив во многих случаях антибиотикотерапию в медицинской практике.

