

## ОТЗЫВ

**на автореферат диссертационной работы Филипповой Анны Андреевны на тему  
«Разработка метода мультиплексного определения транскриптов генов бета-  
лактамаз у мультирезистентных бактерий Enterobacteriaceae»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук  
по специальности 1.5.6 – «Биотехнология»**

Диссертационная работа Филипповой Анны Андреевны «Разработка метода мультиплексного определения транскриптов генов бета-лактамаз у мультирезистентных бактерий Enterobacteriaceae» выполнена в МГУ имени М.В. Ломоносова на кафедре химической энзимологии химического факультета по специальности 1.5.6 – Биотехнология. Данная работа представляет собой комплексное научное исследование, выполненное на стыке молекулярной биологии и биотехнологии и связанное с развитием новых возможностей технологии мультигенетического анализа на биочипах и применением ее для определения уровней экспрессии генов антибиотикорезистентности бактерий. Область исследований работы относится к решению крайне актуальной проблемы современной биологии, медицины и биотехнологии, связанной с изучением и поиском новых подходов к преодолению устойчивости бактерий-возбудителей инфекционных заболеваний к антибиотикам.

Целью работы являлась разработка метода мультиплексного анализа транскриптов генов бета-лактамаз бактерий семейства Enterobacteriaceae. Необходимость мультиплексного анализа генов и их транскриптов обусловлена наличием у бактерий, характеризующихся множественной устойчивостью к антибиотикам, генов нескольких бета-лактамаз, относящихся к разным молекулярным классам и имеющих разную субстратную специфичность. Для определения транскриптов генов бета-лактамаз Филипповой А.А. предложено использовать метод мультианализа генов на биочипах с колориметрической детекцией, дополнив его стадией пробоподготовки и использованием стандартных образцов мРНК исследуемых бета-лактамаз.

К основным результатам, полученным в диссертационной работе, относятся следующие: разработана методология количественного гибридационного мультианализа нуклеиновых кислот на колориметрических биочипах; оптимизирована методика пробоподготовки ДНК-мишени из фракции общей РНК и показано, что использование специфичных праймеров позволяет в несколько раз увеличить эффективность реакции обратной транскрипции; синтезированы синтетические мРНК, соответствующие полноразмерным генам бета-лактамаз четырех типов; определены аналитические параметры определения четырех типов бета-лактамаз; проведен анализ транскриптов генов бета-лактамаз грамотрицательных бактерий, культивированных в присутствии бета-лактамных антибиотиков.

Работа является разноплановой, но при этом достаточно логичной: вся большая экспериментальная работа по оптимизации методик направлена на достижение основной цели – разработать метод количественного анализа специфичных мРНК генов бета-лактамаз, который позволит с нужной чувствительностью, специфичностью и точностью определять концентрацию транскриптов генов бета-лактамаз. Разработанный метод применен для определения концентраций транскриптов генов бета-лактамаз четырех типов в реальных клинических образцах бактериальных штаммов, культивированных в присутствии разных бета-лактамных антибиотиков. Автором подобраны условия культивирования, которые позволили получить образцы с разным содержанием



специфичных мРНК бета-лактамаз. Таким образом были продемонстрированы возможности нового метода в одновременном определении количеств мРНК четырех типов генов ферментов в широком диапазоне концентраций. Интересным представляется результат работы, выявивший увеличение транскрипции мРНК всех плазмидно-кодируемых генов бета-лактамаз при культивировании бактерий в присутствии меропенема.

Разработанный метод может быть использован для детального изучения механизмов формирования устойчивости бактерий к антибиотикам. Практическая значимость работы состоит в разработке биочипа для одновременного определения концентраций мРНК клинически значимых бета-лактамаз разных типов в одном анализе.

Из представленных в автореферате материалов виден большой объем экспериментальных исследований, проведенных Филипповой А.А. с применением современных методов. Все выводы, сделанные в работе, достоверны и подтверждены экспериментальными данными.

Основные результаты представленной диссертационной работы Филипповой А.А. опубликованы в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в Web of Science/Scopus/РИНЦ, а также представлены на международных и российских конференциях.

Замечаний по работе нет.

Диссертационная работа Филипповой А.А. «Разработка метода мультиплексного определения транскриптов генов бета-лактамаз у мультирезистентных бактерий Enterobacteriaceae» выполнена на высоком методическом уровне и является законченным исследованием, соответствующим требованиям пп. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», к работам, представленным на соискание ученой степени кандидата химических наук. Соискатель Филиппова Анна Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6. – «Биотехнология».

Заведующая лабораторией медицинской бактериологии  
«Санкт-Петербургского научно-исследовательского института  
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия человека  
Мира ул., д. 14, Санкт-Петербург, 197101  
тел. 7 (812) 498 09 39,  
E-mail

доктор медицинских наук по специальности  
03.02.03 – микробиология Людмила Александровна Краева

Подпись Л. А. Краевой заверяю:

Ученый секретарь института, к.м.н.

И.Ф. Грифорова

29 ноября 2022 г.