

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию Ждида Гадира «Изучение новых бактериофагов условно-патогенных бактерий и факторов, влияющих на их взаимодействие с бактериями», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - молекулярная биология**

### **Актуальность темы**

Диссертационная работа Ждида Гадира посвящена микробиологической и генетической характеристике новых бактериофагов условно-патогенных бактерий, а также анализу факторов, определяющих взаимодействие фагов с бактериальными хозяевами. Тема является актуальной для современной молекулярной биологии, медицинской микробиологии и биотехнологии, поскольку рост антибиотикорезистентности усиливает интерес к фаготерапии и требует более глубокого понимания биологии фагов, механизмов фаговой специфичности, эволюционной адаптации фагов и бактериальных систем защиты.

Особое значение имеет выбранный автором фокус на условно-патогенных бактериях *Enterobacter cloacae*, *Stenotrophomonas maltophilia* и *Aeromonas popoffii*. Эти микроорганизмы представляют интерес как потенциальные возбудители инфекций, в том числе связанных с госпитальной медицинской помощью и сниженной чувствительностью к антибактериальным препаратам. Для практического применения фагов недостаточно простого выделения вируса, способного инфицировать бактериальный штамм. Необходимо также определить его литические свойства, безопасность, таксономическое положение, устойчивость к бактериальным антифаговым системам и способность к адаптации в условиях коэволюционного давления.

В этом отношении диссертация затрагивает одну из ключевых проблем фаготерапии: почему даже специфические к патогену фаги не всегда оказываются терапевтически перспективными и можно ли использовать слаболитические фаги как инструмент модуляции антибиотикочувствительности или как основу для дальнейшей адаптации и инженерного улучшения. Такая постановка задачи делает работу не только описательной, но и направленной на выявление подходов, которые могут быть использованы при рациональном подборе и оптимизации фаговых препаратов.

### **Цель, задачи и общая характеристика работы**

Целью диссертационного исследования являлась микробиологическая и генетическая характеристика новых бактериофагов и изучение их взаимодействия со своими бактериальными хозяевами, включая противофаговые защитные системы последних. Для достижения цели автором были поставлены и решены задачи по изучению биологических свойств фагов *E. cloacae* EC151 и EC152, *A. popoffii* AerP\_220 и *S. maltophilia* StM171, анализу их геномов и таксономического положения, изучению динамики эволюции фагов EC151, EC152, StM171 и StenM174 при культивировании с бактериальными хозяевами в различных условиях, пангеномному анализу систем защиты от фагов у *S. maltophilia* и поиску генов устойчивости к антибиотикам.

Работа имеет логичную структуру и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть, результаты собственных исследований и их обсуждение,

заключение, выводы, список сокращений и список литературы. Диссертация изложена на 174 страницах, содержит 41 рисунок и 8 таблиц. Список литературы включает 365 источников. Обзор литературы достаточно подробно раскрывает современное состояние исследований в области геномики бактериофагов, механизмов коэволюции фагов и бактерий, фагорезистентности и перспектив фаготерапии.

### **Научная новизна**

Научная новизна работы состоит в том, что автором впервые выполнена комплексная характеристика ряда новых бактериофагов, включая изучение их литических свойств, морфологии, геномной организации и таксономического положения. Для фага *A. popoffii* AepP\_220 обосновано отнесение к новому роду *Yinyavirus* и новому подсемейству *Tolavirinae*. Для фага *S. maltophilia* StM171 - отнесение к новому виду *Nordvirus* и для фага *E. cloacae* EC151 показаны особенности, позволяющие рассматривать его как представителя нового рода.

Важным результатом представленной работы является выявление у фага EC151 полного кластера генов модификации 7-дезагуанина, вероятно защищающего фаговый геном от бактериальных эндонуклеаз, а также обнаружение у фага EC152 полного пути восстановления NAD<sup>+</sup>, что расширяет представления о метаболических и антизащитных возможностях бактериофагов. Эти данные имеют значение для понимания молекулярных механизмов противодействия фагов бактериальным системам защиты.

Новыми являются также результаты анализа коэволюции фагов EC151, EC152, StM171 и StenM174 с бактериальными хозяевами в разных экспериментальных условиях. Автор показывает, что присутствие эволюционно наивного хозяина может улучшать результаты адаптации фагов, однако эффект зависит от конкретной фаг-бактериальной системы и присутствия конкурирующего фага. Отдельного внимания заслуживает пангеномный анализ 72 штаммов *S. maltophilia*, позволивший выявить 72 типа антифаговых систем и 27 островков защиты, четыре из которых содержали около 60% всех обнаруженных случаев антифаговых систем.

### **Обоснованность и достоверность научных положений и выводов**

Достоверность полученных результатов обеспечивается сочетанием классических микробиологических подходов, электронной микроскопии, методов молекулярной биологии, секвенирования, биоинформационного анализа и статистической обработки данных. В работе использованы методы определения спектра хозяев для размножения, кинетики лизиса, qPCR, сборки и аннотации геномов, филогенетического анализа, сравнительной геномики и поиска антифаговых систем.

Выводы в целом соответствуют поставленным задачам и опираются на представленные экспериментальные и биоинформационные данные. Так, заключение о высокой литической активности AepP\_220 основано на биологических характеристиках фага и анализе его генома. Выводы о новых таксономических единицах поддержаны VIRIDIC, ViPTree, vConTACT2 и филогенетическим анализом консервативных белков. Выводы о распространенности и организации систем защиты у *S. maltophilia* опираются на сравнительный анализ геномов и определение защитных островков.

Положения, выносимые на защиту, соответствуют содержанию диссертации. Они отражают основные результаты: таксономическую характеристику новых фагов, влияние StM171 на антибиотикочувствительность, зависимость адаптации фагов от условий коэволюции и широкое разнообразие антифаговых систем у *S. maltophilia*.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в расширении представлений о разнообразии бактериофагов условно-патогенных бактерий, о генетических механизмах противодействия фагов бактериальным антифаговым системам и об организации защитных островков у *S. maltophilia*. Работа вносит вклад в развитие молекулярной биологии фаг-бактериальных взаимодействий и демонстрирует, что даже геномно близкие или морфологически сходные фаги могут существенно различаться по литической активности, метаболическим генам и адаптационному потенциалу.

Практическая значимость состоит в том, что полученные данные могут быть использованы при подборе фагов для фаготерапии, при оценке пригодности фагов для терапевтического применения, при разработке схем предварительной адаптации фагов и при создании фаговых коктейлей с учетом бактериальных систем защиты. Особый интерес представляют результаты, показывающие возможность штаммоспецифической модуляции антибиотикочувствительности *S. maltophilia* после возникновения устойчивости к фагу StM171, а также выявление консервативных защитных островков как потенциальных мишеней для рационального проектирования фагов с контрмеханизмами.

### **Публикации, апробация и личный вклад соискателя**

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях и представлены на 13 российских и международных конференциях, включая OpenBio, Evergreen, BioTop, конференцию «От молекулярной биологии до генетической диагностики», Европейский конгресс клинической микробиологии и инфекционных заболеваний, а также конференцию «Бактериофаги: от фундаментальных исследований к применению». В автореферате приведен список основных публикаций по теме диссертации, включая статьи в журнале *Viruses*, индексируемые в Web of Science, что свидетельствует о достаточной апробации результатов исследования в профессиональном научном сообществе.

Личный вклад соискателя сформулирован в диссертации достаточно подробно. Автор самостоятельно выполнил значительную часть микробиологических экспериментов, биоинформационного анализа геномов фагов и бактерий, оптимизацию qPCR для изучения биологических характеристик фагов, а также участвовал в разработке концепции и планировании изучения фага StM171, коэволюции бактериофагов *in vitro* и геномных особенностей изучаемых бактериальных штаммов.

### **Оформление диссертации и соответствие автореферату**

Диссертация оформлена в целом аккуратно, иллюстративный материал представлен в достаточном объеме и помогает восприятию результатов. Таблицы и рисунки в основном соответствуют содержанию текста и отражают ключевые экспериментальные и биоинформационные данные. Структура работы соответствует логике исследования: от

постановки проблемы и обзора литературы к описанию методов, характеристике фагов, анализу их взаимодействия с хозяевами и обобщению результатов.

Автореферат диссертации объемом 24 страницы содержит общую характеристику работы, обоснование актуальности темы, цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, сведения о методологии и методах исследования, положения, выносимые на защиту, данные о личном вкладе соискателя, апробации результатов, публикациях, структуре диссертации, краткое изложение содержания работы, заключение, выводы и список основных публикаций по теме диссертации.

Содержание автореферата соответствует основным идеям, научным положениям, результатам и выводам диссертационной работы. В автореферате отражены ключевые результаты: характеристика фагов EC151, EC152, AerP\_220 и StM171, обоснование новых таксономических единиц, данные о влиянии StM171 на биопленкообразование и антибиотикочувствительность *S. maltophilia*, результаты экспериментов по адаптивной эволюции фагов; пангеномный анализ антифаговых систем и защитных островков *S. maltophilia*.

### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

- В работе убедительно показана слабая литическая активность ряда изученных фагов, однако критерии, по которым слаболитический фаг может рассматриваться как перспективный для терапевтического использования или для предварительной сенсбилизации бактерий к антибиотикам, сформулированы недостаточно строго. Было бы полезно яснее отделить фундаментальную ценность таких фагов от их непосредственной прикладной пригодности.
- Для оценки чувствительности к антибиотикам использован диско-диффузионный подход. Он подходит для первичной фенотипической оценки, но при обсуждении терапевтических перспектив комбинаций фага и антибиотика желательно дополнить его определением МИК. Это позволило бы более строго различать синергизм, аддитивность, индифферентность и антагонизм.
- Оптимизация qPCR для оценки взаимодействия фагов и бактерий является интересной методической частью работы. Вместе с тем qPCR регистрирует фаговую ДНК и не всегда позволяет однозначно различить инфекционные фаговые частицы, дефектные частицы и свободную ДНК. В будущих исследованиях желательно сочетать qPCR с титрованием бляшкообразующих единиц и полногеномным секвенированием фаговых популяций после разных пассажей.
- Пангеномный анализ антифаговых систем *S. maltophilia* представляет значительный интерес, однако значительная часть выводов основана на биоинформационном предсказании. Следующим логичным шагом должна стать экспериментальная проверка защитной функции наиболее частых и консервативных систем, а также проверка того, действительно ли выявленные защитные островки ограничивают инфекцию конкретными фагами.
- В выводах и обсуждении было бы полезно более явно разграничить результаты, непосредственно доказанные в работе, и перспективные направления, такие как клонирование фаговых контрзащитных систем в другие фаги и рациональное

проектирование фаговых коктейлей. Эти направления выглядят многообещающими, но требуют отдельной экспериментальной и регуляторной оценки.

Указанные замечания носят дискуссионный и уточняющий характер. Они не снижают общей положительной оценки диссертационной работы, поскольку основные положения и выводы достаточно обоснованы представленными результатами. Работа производит хорошее впечатление, ее результаты важны для развития молекулярной генетики фагов и бактерий, как в мире, так и, что более важно, в Российской Федерации.

## Заключение

Диссертационная работа Ждид Гадир «Изучение новых бактериофагов условно-патогенных бактерий и факторов, влияющих на их взаимодействие с бактериями» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей значение для развития молекулярной биологии, микробиологии и исследований фаг-бактериальных взаимодействий. Автором получены новые данные о биологических и геномных свойствах бактериофагов условно-патогенных бактерий, о факторах их коэволюционной адаптации, о влиянии фаговой резистентности на антибиотикочувствительность *S. maltophilia* и об организации антифаговых систем защиты у этого вида.

По актуальности, научной новизне, достоверности полученных результатов, теоретической и практической значимости диссертация соответствует требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Считаю, что Ждид Гадир заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - молекулярная биология.

Официальный оппонент:

Подпись:

Дата:

Зав. лаборатории фармакогеномики  
ИХБФМ СО РАН, д.б.н.,

Филипенко Максим Леонидович

«18» июля 2026 г.

## Сведения об официальном оппоненте

Фамилия, имя, отчество	Филипенко Максим Леонидович
Ученая степень, ученое звание	д.б.н.
Должность	Зав. лабораторией фармакогеномики
Организация	Института химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г.Кнорре СО РАН
Почтовый адрес	630090 Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева 8
Телефон	+7 9139217392
Электронная почта	mlfilipenko@gmail.com

