

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 005.005.01 НА БАЗЕ  
ТИХООКЕАНСКОГО ИНСТИТУТА БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
ИМ. Г.Б. ЕЛЯКОВА ДВО РАН ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 3 февраля 2017 г. № 2

О присуждении **Давыдовой Людмиле Александровне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Адаптационные изменения липидов и их эффект на конформацию OmpF порина *Yersinia pseudotuberculosis*» по специальности 03.01.04 – «биохимия» принята к защите «18» октября 2016 года, протокол № 14 диссертационным советом Д 005.005.01 на базе Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (690022, г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159; приказ № 105/нк от 12.04.2012 г.).

Соискатель Давыдова Людмила Александровна, 1990 года рождения, работает ассистентом кафедры биохимии, микробиологии и биотехнологии Школы естественных наук Дальневосточного федерального университета (ШЕН ДВФУ).

В 2012 году соискатель окончил Дальневосточный федеральный университет.

В 2016 году соискатель окончил аспирантуру при кафедре биохимии, микробиологии и биотехнологии ШЕН ДВФУ.

Диссертация выполнена на кафедре биохимии, микробиологии и биотехнологии ШЕН ДВФУ.

**Научный руководитель** – доктор биологических наук Санина Нина Михайловна, профессор кафедры биохимии, микробиологии и биотехнологии ШЕН ДВФУ.

**Официальные оппоненты:**

Имбс Андрей Борисович, доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе Национального научного центра морской биологии ДВО РАН.

Шкрыль Юрий Николаевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Биолого-почвенного института ДВО РАН.

**Ведущая организация** Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, г. Казань, в своем положительном заключении, подписанном Минибаевой Фаридой Вилевной, доктором биологических наук, заведующей лабораторией окислительно-восстановительного метаболизма, и Валитовой Юлией Наилевной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории окислительно-восстановительного метаболизма указала, что проведенное Давыдовой Л.А. комплексное исследование с использованием разнообразных биохимических, биофизических и молекулярно-генетических методов характеризуется последовательностью и глубиной, помогает расшифровать детали взаимодействия липидного окружения и мембранных белков поринов в бактериях в стрессовых условиях. Открыты новые особенности и закономерности этого взаимодействия. Полученная автором информация может быть использована при решении актуальных проблем медицины, а именно антибиотикорезистентности, что делает работу практически значимой.

Соискатель имеет 27 опубликованных научных работы, в том числе по теме диссертации 13 работ, из них 3 статьи в ведущих рецензируемых научных, в которых вклад автора является определяющим, среди них наиболее значимые работы:

1. Davydova L.A., Sanina N.M., Novikova O.D., Portnyagina O.Y., Bakholdina S.I., Velansky P.V., Vorobyeva N.S., Khomenko V.A., Shnyrov V.L., Bogdanov M.V. Opposite effects of lysophosphatidylethanolamines on conformation of OmpF-like porin from *Yersinia pseudotuberculosis* // Protein & Peptide Letters. 2015. Vol. 22. P. 1060-1065.

2. Davydova L.A., Bakholdina S.I., Barkina M.Yu., Velansky P.V., Bogdanov M.V., Sanina N.M. Effect of elevated growth temperature and heat shock on lipid composition of inner and outer membranes of *Yersinia pseudotuberculosis* // Biochimie. 2016. Vol. 123. P. 103-109.

### **На диссертацию и автореферат поступили отзывы:**

1. Биолого-почвенный институт ДВО РАН (г. Владивосток). Отзыв подписан к.б.н., научным сотрудником лаборатории биоинженерии Авраменко Т.В.

«Принципиальных замечаний к работе нет, тем не менее, в ходе прочтения возникли некоторые вопросы. В таблице 5 автор выражает соотношение насыщенных и ненасыщенных ЖК в процентах, однако, их общая сумма не равна ста процентам, в связи с чем возник вопрос, чем может быть вызвано данное несоответствие? Также присутствуют некоторые расхождения в нумерации и упоминании таблиц в тексте (Раздел 2.1)».

2. Университет южной Флориды (г. Тампа, США). Отзыв подписан д.ф.-м.н., профессором Уверским В.Н. Отзыв без замечаний.

«Среди практических результатов работы необходимо отметить возможность использования полученных результатов для разработки новой стратегии борьбы с патогенными организмами, основанной на применении обычных антибиотиков в комбинации с факторами регуляции адаптационных изменений в липидных профилях бактерий, проводящих к контролируемому изменению гидрофобного окружения пориновых каналов».

3. Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). Отзыв подписан к.б.н., старшим научным сотрудником лаборатории иммунохимии Бурыгиным Г.Л.

«Но хотелось бы уточнить у диссертанта механизм действия на клетки *Yersinia pseudotuberculosis* молекул глюкозы в концентрации 0,5%, поскольку выявленные в работе биохимические эффекты: повышение содержания в мембранах лизофосфатидилэтаноламинов, изменения экспрессии генов *ompF* и *ompC* и повышение антибиотикоустойчивости - свидетельствуют о стрессовом состоянии клеток при физиологической концентрации в среде наиболее распространённого в природе моносахарида».

4. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт (г. Ставрополь). Отзыв подписан к.б.н., старшим научным сотрудником Жарниковой Т.В. Отзыв без замечаний.

«Полученные Давыдовой Л.А. данные вносят весомый вклад в разделы биохимии, связанные с выработкой новой стратегии борьбы с патогенными организмами, основанной на применении обычных антибиотиков в комбинации с факторами регуляции адаптационных изменений в гидрофобном окружении пориновых каналов».

5. Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского (г. Москва). Отзыв подписан д.б.н., руководителем центра микробной цитологии Мулюкиным А.Л.

«Некоторые замечания относятся к пожеланию отразить в автореферате информацию о влиянии примененной концентрации фенола (1%) на численность оставшихся жизнеспособными клеток, указания температурного диапазона и оптимума роста; степени влияния резкого повышения температуры на популяции исследуемых бактерий. Вместо термина «психротрофный», который выходит из употребления, лучше было употребить термин «психротолерантный» или «психроактивный». Высказанные замечания несколько не умаляют достоинств работы и высокого впечатления от ознакомления с представленными результатами».

6. Казанский (Приволжский) федеральный университет (г. Казань). Отзыв подписан к.б.н., доцентом кафедры биохимии и биотехнологии Фаттаховой А.Н.

«При чтении работы возникли вопросы:

1. Будет ли кривая температурной зависимости избыточной молярной теплоемкости порина  $\gamma\text{OmpF}$  иметь схожий профиль при использовании другой концентрации белка?

2. Получены ли автором данные по иммуноблоттингу порина  $\gamma\text{OmpF}$  в нативной мембране интактных клеток и подвергнутых повышению температуры? Из результатов диссертации следует, что температурный шок приводит к увеличению лизофосфатидилэтаноламина, что должно препятствовать распаду тримера белка до мономеров. Однако использован очищенный белок в комплексе с липидами (рисунок б), в то время как интересно было бы сравнить отношение тримеров к мономерам в нативной мембране *Yersinia pseudotuberculosis* при разных температурах».

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что они являются компетентными специалистами в области биохимии липидов и белков. Это подтверждается их научными публикациями. Выбор ведущей организации основан на том, что в ней проводятся исследования в области биохимии мембранных липидов, структуры и динамики белков, а также физиологии микроорганизмов.

**Диссертационный совет отмечает, что** на основании выполненных соискателем исследований впервые показан различный эффект общих липидов *Y. pseudotuberculosis* с высоким и низким содержанием лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭ) на конформацию порина OmpF и установлено, что в ответ на стресс аккумулируется преимущественно ненасыщенная форма ЛФЭ. Впервые показан противоположный эффект ненасыщенной и насыщенной молекулярных форм ЛФЭ на конформацию порина OmpF. Впервые исследован фосфолипидный и жирнокислотный состав наружной и цитоплазматической мембран *Y. pseudotuberculosis* при адаптации к повышению температуры и в условиях теплового шока. Показано, что ЛФЭ преимущественно накапливается в наружной мембране *Y. pseudotuberculosis*, в которой локализуется порин OmpF. Установлено, что повышение уровня ЛФЭ приводит к снижению чувствительности *Y. pseudotuberculosis* к  $\beta$ -лактамному антибиотику ампициллину. Показана возможность регулирования чувствительности *Y. pseudotuberculosis* к ампициллину путем адаптационного изменения уровня ЛФЭ в бактериальных клетках.

**Теоретическая значимость работы обоснована тем, что** исследование адаптационных липид-индуцированных изменений конформации и функциональной активности поринов имеют важное теоретическое значение для понимания физиологии микроба в меняющихся условиях окружающей среды.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что** полученные результаты могут быть использованы для выработки новой стратегии борьбы с патогенными организмами, основанной на применении обычных антибиотиков в комбинации с

факторами регуляции адаптационных изменений в гидрофобном окружении пориновых каналов.

Оценка достоверности результатов исследования показала, что для экспериментальных работ использовано современное оборудование и широкий спектр современных физико-химических методов исследования, включая методы выделения липидов. Полученный экспериментальный материал объективно оценен автором, выводы обоснованы и соответствуют целям и задачам, сформулированным в работе.

Личный вклад соискателя состоит в проведении анализа литературы, в планировании и непосредственном участии в получении исходных данных, проведении экспериментов, анализе и интерпретации экспериментальных результатов, личном участии в подготовке основных публикаций по выполненной работе.

На заседании 3 февраля 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Давыдовой Л.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 5 докторов наук, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 18, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель диссертационного совета  
Стоник Валентин Аронович

Ученый секретарь диссертационного совета  
Черников Олег Викторович



3 февраля 2017 г.