

Федеральное государственное учреждение
**«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»**

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 954-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru

15.03.2016 № 12307-2143-113

На № _____

УТВЕРЖДАЮ:

Директор
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»
чл.-корр. РАН
Попов В.О.



«24» февраля 2016 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» на
диссертационную работу Рогова А.Г.

«Взаимосвязь между окислительным стрессом, дисфункцией митохондрий, их
фрагментацией и апоптозом в клетках дрожжей»

Диссертационная работа «Взаимосвязь между окислительным стрессом, дисфункцией митохондрий, их фрагментацией и апоптозом в клетках дрожжей» выполнена на базе лаборатории биоэнергетики Института биохимии им. А.Н.Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». В период подготовки диссертационной работы соискатель Рогов Антон Геннадьевич исполнял обязанности младшего научного сотрудника.

В июне 2010 г. Рогов А.Г. окончил Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности «биоинженерия и биоинформатика», а в ноябре 2010 г. поступил в очную аспирантуру Учреждения Российской академии наук Института биохимии им. А.Н.Баха РАН, где проходил обучение по ноябрь 2013 г. С ноября 2013 г. работал в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимии им. А.Н.Баха Российской академии наук в должности младшего научного сотрудника, и с июля 2015 г. продолжил работу в

Федеральном государственном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в апреле 2015 г. в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биохимии им. А.Н.Баха Российской академии наук

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Учёного совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии им. А.Н.Баха Российской академии наук (Протокол № 10 от 18 декабря 2014 г.).

Научный руководитель:

Звягильская Рената Александровна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биоэнергетики Института биохимии им. А.Н.Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Подготовленная диссертационная работа Рогова А.Г. была представлена 16 февраля 2016 года на совместном семинаре лабораторий биоэнергетики, молекулярной генетики, стрессов микроорганизмов Института биохимии им. А.Н.Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы и направленность исследования.

Термин «окислительный стресс» в настоящее время используется для обозначения повышенной внутриклеточной генерации активных форм кислорода (АФК) (среди них наиболее распространённые супероксид анион-радикал, пероксид водорода, синглетный кислород и гидроксил анион-радикал) и окислительного повреждения редокс-чувствительных компонентов клетки (железо-серных кластеров, белков, липидов и нуклеиновых кислот).

В клетке основными источниками АФК являются митохондрии. Именно они концентрируют в себе большую часть окислительных метаболических путей, содержат многочисленные редокс-переносчики и центры, потенциально способные к одноэлектронному восстановлению кислорода до радикала супероксид-аниона, предшественника других форм АФК. В норме продукция АФК уравнивается различными антиоксидантными системами, локализованными в цитоплазме и самих митохондриях (включая разобщающие белки у животных и растений и альтернативную оксидазу у растений и грибов). Избыточная продукция АФК митохондриями связана, как правило, с их дисфункцией и представляет серьезную угрозу для жизни клетки. Анализ структуры смертности в мире показывает, что связанные с окислительным стрессом патологии (инсульты, инфаркты, диабет, хронические воспаления и др.) лидируют в списке причин смертей. Очевидно, что не только качество, но и количество митохондрий в клетке должно строго соответствовать энергетическим потребностям организма в норме и при меняющихся физиологических условиях. Этим целям служит процесс митофагии. Митофагии всегда предшествует фрагментация митохондрий, которая часто является характерным признаком начала запрограммированной клеточной смерти (апоптоза).

Ясно, что выяснение взаимосвязи: дисфункция митохондрий – окислительный

стресс – митофагия – апоптоз является чрезвычайно актуальной задачей, также как и предотвращение или обращение окислительного стресса и связанных с ним последствий с помощью антиоксидантов.

Конкретное личное участие автора в получении научных результатов.

Представленные в диссертационной работе экспериментальные данные получены либо автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование и проведение экспериментов, обработку, оформление и публикацию результатов. Обсуждение, обобщение и интерпретация некоторых экспериментальных данных, формулировка основных положений диссертации, составляющих её новизну и практическую значимость, формирование цели, задач, выводов и обсуждение результатов проводилось совместно с научным руководителем.

Степень достоверности результатов проведённых соискателем учёной степени исследований.

Выводы, представленные в этой работе, полностью подтверждены экспериментальными данными. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Использованные методики исследования и проведённые расчёты корректны.

Новизна и ценность результатов, полученных лично автором в ходе научного исследования.

Исследовано действие бутилового эфира родамина 19 (C₄R1), бензалкония хлорида (БХ) и SkQT1 на прочносопряженные митохондрии печени крысы. Показано, что C₄R1 и БХ являются активаторами Ca²⁺/Рн-неспецифической поры и специфическими ингибиторами синтеза и гидролиза АТФ митохондриями (для БХ показано впервые). SkQT1 является наиболее эффективным митохондриально-направленным антиоксидантом нового поколения. Впервые смоделирована пространственная структуры альтернативной оксидазы (АО) дрожжей, выявлены ее консервативные участки и активные центры. Показана связь окислительного стресса с фрагментацией митохондрий дрожжей *D. magnusii*, и впервые показана способность митохондриально-направленных антиоксидантов не только предотвращать, но и обращать фрагментацию митохондрий дрожжей, вызванную окислительным стрессом. Данные, полученные в работе, расширяют представления о влиянии окислительного стресса на индукцию апоптоза у дрожжей.

Практическая значимость диссертации и использование полученных результатов.

Построенная впервые модель альтернативной оксидазы дрожжей, по-видимому, адекватно описывает структуру и свойства альтернативных оксидаз из других грибов, она полезна при разработке специфических фармацевтических средств лечения микозов. Полученные нами данные должны учитываться при использовании C₄R1 в качестве потенциального препарата медицинского назначения, необходим баланс между его хорошей способностью проникать в ткани и преодолевать гематоэнцефалический барьер, с одной стороны, а с другой, как было показано нами, возможным негативным действием на биоэнергетику. Выявленное негативное действие на биоэнергетику митохондрий бензалкония хлорида (БХ), широко используемого консерванта для всех типов глазных капель, делает целесообразным замену его менее токсичным консервантом. Обнаруженная высокая эффективность (при минимальном

побочном действии) нового митохондриально-направленного антиоксиданта SkQT1 позволяет рекомендовать его в качестве перспективного агента при лечении патологий, связанных с дисфункциями митохондрий, вызванными окислительным стрессом.

Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите.

Представленная Роговым Антоном Геннадьевичем диссертационная работа посвящена изучению взаимосвязи окислительного стресса, индуцированного прооксидантами, с дисфункцией и фрагментацией митохондрий, а также с клеточной смертью дрожжей аэробного типа обмена. Работа соответствует специальности 03.01.04 Биохимия, по которой рекомендуется к защите.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем учёной степени.

По теме диссертации опубликовано 9 статей, отражающих основной объём диссертационной работы, в изданиях, удовлетворяющих требованиям п. 13 «Положения о присуждении учёных степеней» утверждённого Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842, и перечню рецензируемых журналов ВАК РФ:

Список публикаций:

1. Суханова Е.И., **Рогов А.Г.**, Северин Ф.Ф., Звягильская Р.А. (2012) Феноптоз у дрожжей. Обзор. *Биохимия*, 77(7), 915-931.
2. Черняк Б.В., Антоненко Ю.Н., Галимов Е.Р., Домнина Л.В., Дугина В.Б., Звягильская Р.А., Иванова О.Ю., Изюмов Д.С., Лямзаев К.Г., Пустовидко А.В., Рокицкая Т.И., **Рогов А.Г.**, Северина И.И., Симонян Р.А., Скулачев М.В., Ташлицкий В.Н., Титова Е. В., Тренделева Т.А., Шагиева Г.С. (2012) Новые митохондриально-направленные соединения, построенные из природных веществ: конъюгаты растительных алкалоидов берберина и пальматина с пластохиноном. *Биохимия*, 77(9), 1186-1200.
3. Тренделева Т.А., **Рогов А.Г.**, Черепанов Д., Суханова Е.И., Ильясова Т.М., Северина И.И., Звягильская Р.А. (2012) Взаимодействие тетрафенилфосфония и додецилтрифенилфосфония с липидными мембранами и митохондриями. *Биохимия*, 77(9), 1230-1239.
4. Trendeleva T.A., Sukhanova E.I., **Rogov A.G.**, Zvyagilskaya R.A., Seveina I.I., Ilyasova T.M., Cherepanov D.A., Skulachev V.P. (2013) Role of charge screening and delocalization for lipophilic cation permeability of model and mitochondrial membranes. *Mitochondrion*, 13(5), 500-506.
5. Litvinchuk A.V., Sokolov S.S., **Rogov A.G.**, Knorre D.A., Severin F.F. (2013) Mitochondrially-encoded protein Var1 promotes the loss of respiratory function in yeast *Saccharomyces cerevisiae* under stressful conditions. *Eur. J. Cell Biol.*, 92 (4), 169-174.
6. Pustovidko A.V., Rokitskaya T.I., Severina I.I., Simonyan R.A., Trendeleva T.A., Lyamzaev K.G., Antonenko Y.N., **Rogov A.G.**, Zvyagilskaya R.A., Skulachev V.P., Chernyak B.V. (2013) Derivatives of the cationic plant alkaloids berberine and palmatine amplify protonophorous activity of fatty acids in model membranes and mitochondria. *Mitochondrion*, 13(5), 520-525.
7. Severina I.I., Severin F.F., Korshunova G.A., Sumbatyan N.V., Ilyasova T.M., Simonyan R.A., **Rogov A.G.**, Trendeleva T.A., Zvyagilskaya R.A., Dugina V.B., Domnina L.V., Fetisova E.K., Lyamzaev K.G., Vyssokikh M.Y., Chernyak B.V., Skulachev M.V., Skulachev V.P., Sadovnichii V.A. (2013) In search of novel highly active mitochondria-targeted antioxidants: thymoquinone and its cationic derivatives. *FEBS Lett.*, 587(13), 2018-2024.

8. **Рогов А.Г.**, Суханова Е.И., Уральская Л.А., Аливердиева Д.А., Звягильская Р.А. (2014) Альтернативная оксидаза: распространение, индукция, свойства, структура, регуляция, функции (обзор). *Успехи биол. химии*, 54, 413-456.
9. **Рогов А.Г.**, Звягильская Р.А. (2015) Физиологическая роль митохондриальной альтернативной оксидазы (от дрожжей до растений). Обзор. *Биохимия*, 80(4), 472-479.

Результаты работы также были представлены на 5 международных и 3 всероссийских конференциях.

Считать диссертационную работу **Рогова Антона Геннадьевича** «Взаимосвязь между окислительным стрессом, дисфункцией митохондрий, их фрагментацией и апоптозом в клетках дрожжей» законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует критериям, изложенным в п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утверждённом Правительством РФ от 24.09.2013г. № 842, и профилю диссертационного совета Д 002.247.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Работа отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Рекомендовать диссертационному совету Д 002.247.01 по защите диссертаций на соискание учёной степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» принять к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия диссертационную работу Рогова Антона Геннадьевича «Взаимосвязь между окислительным стрессом, дисфункцией митохондрий, их фрагментацией и апоптозом в клетках дрожжей» (научный руководитель д.б.н. проф. Звягильская Р.А.).

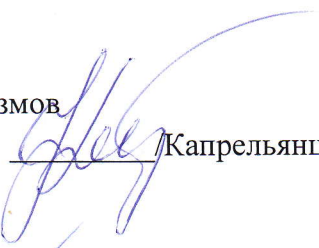
Заключение принято на совместном семинаре лабораторий биоэнергетики, молекулярной генетики, стрессов микроорганизмов Института биохимии им. А.Н.Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» путём открытого голосования. Присутствовало на семинаре – 20 человек. Результаты голосования: «за» – 20 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет. Протокол №1 от «16» февраля 2016 г.

Председатель

совместного семинара лабораторий

заведующий лабораторией стрессов микроорганизмов

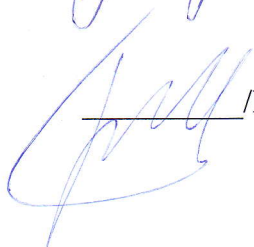
д.б.н., проф.

 /Капельянц А.С./

Секретарь

совместного семинара лабораторий

аспирант лаборатории биоэнергетики

 /Голева Т.Н./