

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.233.01 ПО ЗАЩИТЕ
ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК, НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ» РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 27 июня 2024 г. № 10.

О присуждении Аливердиевой Динаре Алиевне, гражданство Российская Федерация,
ученой степени доктора биологических наук

Диссертация «Транспортеры дикарбоксилатов и модельные пороформеры в биологических мембранах» по специальности 1.5.4. Биохимия принята к защите 26 марта 2024 г. (протокол № 4) диссертационным советом 24.1.233.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, 119071, Москва, Ленинский проспект, дом.33, строение 2. Совет утвержден Рособрудзором Министерства образования и науки РФ, приказ № 2249-1602 от 16.11.2007 г. с учетом изменений в составе Совета в соответствии с приказом Минобрнауки от 13.02.2013 № 74/нк и от 10.02.2014 №55/нк, от 30.09.2015 №1166/нк; от 13 марта 2019 года № 222/нк; от 03.06.2021 №561/нк и 22 марта 2023 г. № 501/нк.

Соискатель

Аливердиева Динара Алиевна, 1960 года рождения, окончила с отличием биологический факультет Дагестанского государственного университета с присуждением квалификации «биология, химия» в 1981 г. С 1981 по 1984 г. обучалась в очной аспирантуре Института биохимии им. А.Н. Баха РАН. В 1985 г. Аливердиева Д.А. защитила кандидатскую диссертацию «Действие мастопарана и аламетицина на митохондрии печени крыс» в Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН по специальности 03.01.04. Биохимия (диплом БЛ № 016040), выполненную в лаборатории биологического окисления (лаборатории биоэнергетики) в группе к.б.н. К.Ф. Шольца под руководством д.б.н., профессора А.В. Котельниковой. С 1987 г. работала в лаборатории биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук в должности м.н.с., н.с., с.н.с., с 2010 г. по настоящее время – ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией.

Диссертационную работу соискатель Аливердиева Д.А. выполняла в лаборатории

биоэнергетики Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» и в лаборатории биохимии и биотехнологии Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Научный консультант

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

По результатам рассмотрения диссертации «Транспортеры дикарбоксилатов и модельные пороформеры в биологических мембранах» принято следующее заключение.

Официальные оппоненты

Калебина Татьяна Сергеевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», кафедра молекулярной биологии, лаборатория молекулярной биологии, ведущий научный сотрудник.

Шугаев Александр Григорьевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Института физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН, лаборатория дыхания растений и его регуляции, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией.

Белослудцев Константин Николаевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Марийский государственный университет», кафедра биохимии, клеточной биологии и микробиологии, профессор кафедры.

Выбор официальных оппонентов был обусловлен:

тем, что доктор биологических наук, профессор Калебина Татьяна Сергеевна является одним из ведущих специалистов в области молекулярной биологии клетки, исследования роли белков в молекулярной организации клеточной стенки дрожжей;

тем, что доктор биологических наук Шугаев Александр Григорьевич является одним из ведущих специалистов в области митохондриологии, исследования механизмов транспорта в митохондриях и их роли в функциональной организации органелл.

тем, что доктор биологических наук Белослудцев Константин Николаевич является одним из ведущих специалистов в области митохондриологии, исследования механизмов пермеабиллизации фосфолипидных мембран, свойств митохондрий и регуляции проницаемости их внутренней мембраны.

Квалификация оппонентов подтверждается наличием у них значительного числа

публикаций в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах.

Все три официальных оппонента дали положительные отзывы на диссертацию Аливердиевой Д.А. (на с. 9-11).

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» в своем положительном отзыве, составленном ведущим научным сотрудником лаборатории адаптации микроорганизмов ИБФМ им. Г.К. Скрыбина ФИЦ ПНЦБИ РАН, доктором биологических наук (по специальности 03.00.07 микробиология) Меденцевым Александром Григорьевичем и утвержденном директором ФИЦ ПНЦБИ РАН д.ф.-м.н. Грабарником П.Я., указала, что диссертационная работа Аливердиевой Д.А. является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, имеющей большое научное и практическое значение. Диссертация полностью соответствует требованиям, изложенным в Положении о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции от 25.01.2024 г.) «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Аливердиева Динара Алиевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Выбор ведущей организации был обусловлен тем, что ФИЦ ПНЦБИ РАН является ведущим российским центром биологических исследований, в том числе микробиологического и биотехнологического направления, в котором лаборатория адаптации микроорганизмов ИБФМ им. Г.К. Скрыбина РАН активно проводит изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе регуляции обмена веществ микроорганизмов, и располагает значительным опытом исследований в области метаболизма дрожжей, разработки физиолого-биохимических путей адаптации дрожжей к стрессовым воздействиям и изучения механизмов этого процесса. Таким образом, сотрудники указанной лаборатории являются высококвалифицированными специалистами, ведущими исследования по тематике, непосредственно связанной с диссертационной работой Аливердиевой Д.А.

В целом, высокая квалификация оппонентов и сотрудников ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность данной диссертационной работы.

Публикации

Основные результаты диссертационной работы Аливердиевой Динары Алиевны изложены в 24 статьях в рецензируемых научных журналах, входящих в список изданий, рекомендованных ВАК РФ, из них 22 – в научных журналах, индексируемых в базе данных Web of Science; 5 глав и статей в книгах, 2-х российских патентов на изобретение, что соответствует требованиям п.11 «Положения о присуждении ученых степеней»,

утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842.

Статьи в рецензируемых изданиях, индексируемых в Web of Science или Scopus:

1. Абрамов Ш.А., Эфендиева Д.А. (Аливердиева Д.А.), Котенко С.Ц. Влияние питательной среды на содержание белка в дрожжах *S. cerevisiae* // Прикладная биохимия и микробиология. – 1994. – Т. 30, № 2. – С. 275-279.
2. Абрамов Ш.А., Котенко С.Ц., Эфендиева Д.А. (Аливердиева Д.А.), Халилова Э.А., Исламмагомедова Э.А., Даунова С.М. Новая питательная среда для выращивания дрожжей // Прикладная биохимия и микробиология. – 1995. – Т. 31, № 2. – С. 232-233.
3. Абрамов Ш.А., Аливердиева Д.А., Котенко С.Ц. Морфологические и биохимические свойства нового штамма *Saccharomyces cerevisiae* Y-503 // Прикладная биохимия и микробиология. – 1997. – Т. 33, № 3. – С. 325-328.
4. Аливердиева Д.А. Сравнительное изучение некоторых параметров энергетического обмена двух штаммов *Saccharomyces cerevisiae* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2001. – Т. 37, № 1. – С. 90-96.
5. Бондаренко Д.И., Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Шольц К.Ф. Определение проницаемости плазматической мембраны дрожжей для амфифильных соединений // Доклады Академии наук. – 2004. – Т. 399, № 5. – С. 693-695.
6. Аливердиева Д.А., Малыгин А.Г., Лагутина Л.С., Шольц К.Ф. Получение клеточных оболочек *Saccharomyces cerevisiae* с целью определения белкового состава // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – Т. 40, № 1. – С. 350-353.
7. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Лагутина Л.С., Шольц К.Ф. Особенности изменения содержания субстратов эндогенного дыхания в клетках *Saccharomyces cerevisiae* при низкой температуре // Биохимия. – 2006. – Т. 71, Вып. 1. – С. 50-58.
8. Мамаев Д.В., Аливердиева Д.А., Бондаренко Д.И., Шольц К.Ф. Изучение топографии активного центра дикарбоксилатного транспортера митохондрий печени крыс с помощью липофильных производных его субстратов // Биохимия. – 2006. – Т. 71, Вып. 7. – С. 984-995.
9. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Бондаренко Д.И., Шольц К.Ф. Свойства дикарбоксилатного транспортера плазматической мембраны *Saccharomyces cerevisiae* // Биохимия. – 2006. – Т. 71, Вып. 10. – С. 1430-1440.
10. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Бондаренко Д.И., Шольц К.Ф. Изучение топографии активного центра дикарбоксилатного транспортера плазматической мембраны *Saccharomyces cerevisiae* с помощью липофильных производных его субстратов // Биохимия. – 2007. – Т. 72, Вып. 3. – С. 325-337.
11. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Бондаренко Д.И. Дикарбоксилатный транспортер плазматической мембраны *Saccharomyces cerevisiae* переносит цитрат и модулируется катионами // Биологические мембраны. – 2008. – Т. 25, № 6. – С. 467-478.
12. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В. Молекулярные характеристики транспортеров дикарбоксилатов и механизм транслокации // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2009. – Т. 45, № 3. – С. 263-276.

13. **Аливердиева Д.А.**, Мамаев Д.В., Лагутина Л.С. Транспорт сукцината в клетки *Saccharomyces cerevisiae* после продолжительной голодовой преинкубации // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 5. – С. 577-485.
14. **Аливердиева Д.А.**, Мамаев Д.В. Транспорт сукцината в клетку *Saccharomyces cerevisiae* не осуществляется через образование его нейтрального комплекса с 2-х зарядными катионами // Биологические мембраны. – 2011. – Т. 28, № 2. – С. 153-154.
15. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Snezhkova L.G., Sholtz Ch.F. Evaluation of molecularity of rate-limiting step of pore formation by antimicrobial peptides studied using mitochondria as a biosensor // Toxicology in vitro. – 2012. – V. 26. – P. 939-949.
16. Тренделева Т.А., **Аливердиева Д.А.**, Звягильская Р.А. Механизмы определения низкого уровня кислорода у млекопитающих и дрожжей и их адаптационные ответы. // Биохимия. – 2014. – Т. 79, Вып. 8. – С. 944-956.
17. Рогов А.Г., Суханова Е.И., Уральская Л.А., **Аливердиева Д.А.**, Звягильская Р.А. Альтернативная оксидаза: распространение, индукция, свойства, структура, регуляция, функции // Биохимия. – 2014. – Т. 79, Вып. 13 – С. 1615-1634.
18. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V. Discrimination of conductance of lower and higher oligomeric alamethicin pores // International Journal of Membrane Science and Technology. – 2015. – № 2. – P. 1-4. doi:10.15379/2410-1869.2015.02.01.1.
19. Рогов А.Г., Тренделева Т.А., **Аливердиева Д.А.**, Р.А. Звягильская. Еще раз о взаимодействии бутилового эфира родамина 19 с митохондриями печени крысы // Биохимия. – 2016. – Т. 81, Вып. 4. – С. 432-438.
20. Рогов А.Г., Голева Т.Н., Овченкова А.П., **Аливердиева Д.А.**, Звягильская Р.А. Новые данные о действии SkQ1 и SkQT1 на митохондрии печени крысы и клетки дрожжей // Биохимия. – 2018. – Т. 83, Вып. 5. – С. 724-734.
21. **Aliverdieva D.A.**, Durzhinskaya M.H., Snezhkova L.G., Mamaev D.V. Mastoparan dissipates mitochondrial transmembrane potential in the physiological (ADP-like) range // International Journal of Membrane Science and Technology. – 2019. – V. 6, № 2. – P. 1-4. doi:10.15379/2410-1869.2019.06.02.01.
22. Goleva T.N., Rogov A.G., Korshunova G.A., Trendeleva T.A., Mamaev D.V., **Aliverdieva D.A.**, Zvyagilskaya R.A. SkQThy, the novel promising mitochondria-targeted antioxidant // Mitochondrion. – 2019. V.49. – P. 206-216.
23. Rogov A.G., Goleva T.N., Suchanova E.I., Ovchenkova A.P., **Aliverdieva D.A.**, Zvyagilskaya R.A. Mitochondrial disfunctions may be one of the major causative factors underlying detrimental effects of benzalkonium chloride // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2020:8956504. doi: 10.1155/2020/8956504. eCollection 2020.
24. Rogov A.G., Goleva T.N., **Aliverdieva D.A.**, Zvyagilskaya R.A. SkQ3 exhibits the most pronounced antioxidant effect on isolated rat liver mitochondria and yeast cells. // Int. J. Mol. Sci. – 2024. – V. 25, Iss.1. 1107. doi.org/10.3390/ijms25021107. eCollection 2024.

Главы и статьи в книгах:

1. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Lagutina L.S. and Bondarenko D.I. Transport of dicarboxylates in *Saccharomyces cerevisiae*. In: "Current Research, Technology and Education

Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology” Ed.: Antonio Mendez Vilas, Publisher: Formatex Research Center, Spain. – 2010. – V. 2. – P. 1611-1620.

2. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V. Study on the dicarboxylates transport into *Saccharomyces cerevisiae* cell using its endogenous coupled system” In: "Biotechnology in Medicine, Foodstuffs, Biocatalysis, Environment and Biogeotechnology” Eds.: S.D. Varfolomeev, G.E. Zaikov, L.P. Krylova, Publisher: Nova Publishers, USA/Russia. – 2010. – Chapter 8. P. 65-72.

3. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Lagutina L.S. *Saccharomyces cerevisiae* plasma membrane dicarboxylate transporter is a probable sensor of extracellular pH. In: “Microbes in Applied Research: Current Advances and Challenges”. Ed.: Antonio Mendez Vilas. Publisher: World Scientific Publishing Co., Spain. – 2012. – P. 640-644.

4. **Aliverdieva D.A.**, Efendieva M.H., Mamaev D.V. Natural pore forming antimicrobial peptides: test for potential toxicity. In: "Industrial, Medical and Environmental Applications of Microorganisms: Current Status and Trends", Publisher: Wageningen Academic Publishers. – 2014. – P. 560-564.

5. **Aliverdieva D.A.**, Efendieva M.H., Mamaev D.V. Pore forming drugs: antimicrobial mechanism and clinical applications. In: "Microbes in the spotlight: recent progress in the understanding of beneficial and harmful microorganisms". Ed.: Antonio Mendez Vilas, Publisher: Boca Ratón: Brown Walker Press, USA. – 2016. – P. 302-306.

Патенты:

1. Абрамов Ш.А., Котенко С.Ц., Далгатова Б.И., Эфендиева Д.А. (**Аливердиева Д.А.**), Халилова Э.А. Способ получения питательной среды для выращивания хлебопекарных дрожжей. Патент РФ № 2084519, Гос. реестр изобретений РФ, 20.07.1997 // Бюл. № 20., 1997.

2. Халилова Э.А., Исламмагомедова Э.А., Абакарова А.А., **Аливердиева Д.А.** Питательная среда для культивирования дрожжей *Saccharomyces*. Патент РФ № 2804446. Гос. реестр изобретений РФ, 29.09. 2023 // Бюл. № 28, 2023.

Избранные публикации в материалах конференций:

1. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Bondarenko D.I., Sholtz K.F. Studies on cell respiration of *Saccharomyces cerevisiae*: physiological significance of dicarboxylate transporter of plasma membrane. // 27th FEBS /PABMB Meeting Materials. PW8-005. Portugal, 30 June – 7 July, 2001 // European Journal of Biochemistry. – 2001. – V. 269. – P. 222-223.

2. **Аливердиева Д.А.**, Мамаев Д.В., Бондаренко Д.И., Шольц К.Ф. Роль дикарбоксилатного транспортера плазматической мембраны *Saccharomyces cerevisiae*. // Материалы III съезда Биохимического общества, Санкт-Петербург, 26 июня – 2 июля 2002. – С. 237-238.

3. **Аливердиева Д.А.** Определение содержания общего белка в концентрированных суспензиях митохондрий. // Тезисы второй международной научной конференции «Биотехнология – окружающей среде», Москва, 25-27 мая 2004 г. // Научные труды международного биотехнологического центра МГУ, 2004. – С. 93.

4. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Sholtz K.F. A comparative sequence analysis of proteins encoded in yeast genomes. // Abstracts ESF-EMBO Symposium on Comparative genomics of eukaryotic microorganisms. Eucaryotic genome evolution, approaches with yeasts and fungi, Sant Feliu de Guixols, Spain, 12 – 17 November, 2005. – P. 80.

5. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Lagutina L.S., Sholtz K.F. Endogenous respiration substrates level in *Saccharomyces cerevisiae* cells. // 14th European Bioenergetics Conference. Moscow, 22 – 27 July, 2006. // Biochim. Biophys. Acta. Bioenergetics. EBEC Short reports. – 2006. – Suppl. V. 14. – P. 326-327.

6. Mamaev D.V., **Aliverdieva D.A.**, Bondarenko D.V., Sholtz K.F. Inhibitory analysis of the rat liver mitochondrial dicarboxylate transporter by means of lipophilic derivatives of substrates. // 14th European Bioenergetics Conference. Moscow, 22 – 27 July, 2006. // Biochim. Biophys. Acta. Bioenergetics. EBEC Short reports. – 2006 – Suppl.V. 14. – P. 325.

7. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Bondarenko D.V., Sholtz K.F. Zvyagilskaya R.A. The atypical plasmalemmal dicarboxylate transporter of *Saccharomyces cerevisiae*. // 15th European Bioenergetics Conference. Moscow, 19 – 24 July, 2008. // Biochim. Biophys. Acta. Bioenergetics. – 2008. – 1777. EBEC Suppl. – P. 80.

8. **Аливердиева Д.А.**, Мамаев Д.В., Бондаренко Д.И., Шольц К.Ф. Изучение топографии активных центров дикарбоксилатных транспортеров с помощью липофильных производных субстратов. // Тезисы IV съезда Российского общества биохимиков и молекулярных биологов, Новосибирск, 11-15 мая 2008 г. – С. 554.

9. **Аливердиева Д.А.** Методические подходы к изучению дикарбоксилатного транспортера плазмалеммы дрожжей. // Тезисы Пятой Международной научно-практической конференции "Исследование, разработка и применение высоких технологий в промышленности", Санкт-Петербург, 28-30 апреля 2008 г. – С. 269-270.

10. **Аливердиева Д.А.**, Мамаев Д.В. Изучение транспорта дикарбоксилатов в клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с помощью эндогенной сопряженной системы. // Материалы Пятого Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития», Москва, 16 – 20 марта 2009. – С. 41-42.

11. **Aliverdieva D.A.** A mitochondrial biosensor for studies of rate-limiting step of pore formation by alamethicin. Abstracts. 2nd World Congress on Biotechnology, Philadelphia, USA, 29 November – 1 December 2011 // J. Microbial. Biochem. Technol. – 2011. V. 3, Iss. 6. – P. 72.

12. **Aliverdieva D.A.**, Mamaev D.V., Efendieva M.H., Snezhkova L.G. A mitochondrial biosensor for studies of molecularity of rate-limiting step of pore formation by alamethicin, mastoparan and melittin. Abstracts. 38th FEBS Congress. Saint Petersburg, 6 – 11 July, 2013. // FEBS Journal. – 2013. – V. 280, Suppl. 1, SW 03. S14-28. – P. 258-259.

13. **Aliverdieva D.A.**, Efendieva M.H., Mamaev D.V. The mitochondria in testing drug-induced toxicity. Abstracts. 39th FEBS EMBO 2014 Conference. Paris. France, 30 August – 4 September 2014. // FEBS Journal. – 2014. – V. 281, Iss. Suppl. s1, CSIII-03 Mitochondria and mitochondrial disorders. – P. 365.

14. Дуржинская М.Х., **Аливердиева Д.А.**, Мамаев Д.В. Пороформирующие антимикробные пептиды и митохондрии: тест на токсичность. // Научные труды II Объединенного научного форума, VI Съезд физиологов СНГ, VI Съезд биохимиков России, IX Российский симпозиум «Белки и пептиды». Сочи, Дагомыс, 1 – 6 октября 2019 г. // Acta Naturae. – Т.2. – С.137.

15. Дуржинская М.Х., **Аливердиева Д.А.**, Мамаев Д.В. Антимикробный пептид аламетицин: механизм порообразования и перспективы клинического использования. // Научные труды III Объединенного научного форума физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII Съезд биохимиков России, X Российский симпозиум «Белки и пептиды», VII Съезд физиологов СНГ. Сочи, Дагомыс, 3 – 8 октября 2021 г. – Т.2. – С.142-143.

16. **Аливердиева Д.А.** Антимикробные пороформирующие полипептиды: механизм действия на митохондрии, перспективы клинического применения. // Тезисы докладов II Всероссийской конференции с международным участием «Теоретические и практические аспекты действия естественной и искусственной гипотермии на организм», Махачкала, 27-30 сентября 2023 г. – С. 70-71.

Результаты работы были представлены на 25 российских и международных конференциях, конгрессах и симпозиумах, в том числе, Симпозиуме ESF-EMBO «Comparative genomics of eukaryotic microorganisms. Eucaryotic genome evolution, approaches with yeasts and fungi» (Каталония, Испания, 2005), III-м и IV-м Съездах Общества биохимиков и молекулярных биологов России (Санкт-Петербург, 2002 и Новосибирск, 2008), Московских международных научных конференциях «Биотехнология – окружающей среде» (Москва, 2004, 2005 и 2006), Московском Международном конгрессе «Биотехнология – состояние и перспективы развития» (Москва, 2009), 2-м Международном конгрессе Биотехнология – 2011 (Филадельфия, США), IV-й международной конференции Environmental, Industrial and Applied Microbiology - BioMicroWorld2011 (Малага, Испания, 2011), V-ой международной конференции Environmental, Industrial and Applied Microbiology BioMicroWorld 2013 (Мадрид, Испания, 2013), 27-ой конференции FEBS/PABMB (Лиссабон, Португалия, 2001) Европейских Биоэнергетических конференциях (ЕВЕС) (Москва, 2006 и Дублин, Ирландия, 2008), 38-ой конференции FEBS (Санкт-Петербург, 2013) и 39-ой конференции FEBS-EMBO (Париж, Франция, 2014), VI конференции Environmental, Industrial and Applied Microbiology – BioMicroWorld2015 (Барселона, Испания, 2015), VI Съезде биохимиков России (Сочи, 2019), VII-м Съезде биохимиков России и X-м Российском симпозиуме "Белки и пептиды" (Сочи–Дагомыс, 2021), Всероссийской конференции с международным участием «Теоретические и практические аспекты действия естественной и искусственной гипотермии на организм» (Махачкала, 2023).

В перечисленных публикациях адекватно отражены результаты экспериментальной работы, проведенной в рамках выполнения диссертации.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук, профессора **Калебиной Татьяны Сергеевны** (положительный). Отзыв содержит следующие вопросы и замечания:

1. В различных местах текста автор применяет термины «транспортёры дикарбоксилатов» и «дикарбоксилатные транспортёры», (например, на стр.4 автореферата). Как можно объяснить необходимость применения различных терминологических обозначений?

2. Первое положение, выносимое на защиту, сформулировано следующим образом: «Теоретически обоснована и экспериментально подтверждена возможность

использования митохондрий и клеток в качестве ЭСС для изучения трансмембранного транспорта моно-, ди- и трикарбоновых кислот» Какие выводы, сделанные автором, являются свидетельством доказательства этого положения?

3. Какова наиболее вероятная конформация молекул ингибиторов в канале транспортера дикарбоксилатов плазмалеммы дрожжей? Задача определить этот параметр была поставлена автором.

4. Какие методы молекулярного моделирования применял автор для определения наиболее вероятной конформации молекул.

Автореферат написан логично, хорошо оформлен и, в целом, достаточно полно представляет содержание диссертации. Отмечается, что выводы, сделанные Аливердиевой Д.А., являются именно выводами из работы, а не переписыванием полученных результатов, что производит весьма хорошее впечатление.

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук **Шугаева Александра Григорьевича** (положительный). Отзыв содержит следующие вопросы и замечания:

Хотелось бы уточнить, является ли вывод о механизме транспортера дикарбоксилатов плазмалеммы дрожжей *S. cerevisiae* – неэлектрогенный унипорт, единственно возможным? Было бы интересно узнать, в опытах по изучению дыхательной активности клеток дрожжей, как дифференцировали в составе сукцинатоксидазной сопряженной системы плазмалеммный и митохондриальный переносчики дикарбоксилатов?

В качестве пожелания можно отметить, что на базе полученных результатов чрезвычайно перспективным представляется разработка новых *in vitro*-тестов для оценки степени токсичности различных пороформирующих антимикробных соединений, потенциальных лекарств.

В отзыве отмечается, что высказанные замечания не рассматриваются как принципиальные и являются пожеланием автору для дальнейшего развития предлагаемого им направления исследований.

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук **Белослудцева Константина Николаевича** (положительный). Отзыв содержит следующие вопросы и замечания:

1. Ключевым подходом для определения кинетических показателей дикарбоксилатного транспорта в клетках дрожжей являлась инкубация клеток при температуре 0°C. Осуществлялась ли проверка жизнеспособности клеток в этих условиях? Также хотелось бы узнать происходил ли анализ чистоты фракции полученных митопластов?

2. Автор использовал итаконовую кислоту в качестве модулятора сукцинатоксидазной активности. Хотелось бы уточнить, на что данная кислота действует. Ведь известно, что итаконовая кислота является ингибитором сукцинатдегидрогеназы митохондрий, но не дикарбоксилатного переносчика. А какая картина наблюдается в

дрожжевых клетках.

3. Что, по мнению автора, является лимитирующей стадией для окисления дикарбоксилатов в клетках млекопитающих и дрожжей – фермент, осуществляющий это окисление (например, сукцинатдегидрогеназа) или транспортеры?

4. Чем, по мнению автора, эксперименты на митохондриях с пороформерами лучше по сравнению с другими экспериментами на искусственных системах?

5. В разделе «Обзор литературы» в главе 1.9 автор описывает механизм действия протонофоров и протонофорный цикл. Согласно современным литературным данным (например, работы Ю.Н. Антоненко) протонофоры могут работать через белки. Однако это не описано у автора. Может ли данный тип работы протонофоров повлиять на интерпретацию данных, полученных автором.

6. Как и во всякой большой работе, встречаются опечатки, но их мало. Из раздела 2.11. непонятно, при какой длине волны измеряли набухание митохондрий (610 или 540 нм), а на рисунке 3.1. вкралась досадная опечатка, была пропущена буква “к”, написано, что добавляли к митохондриям 4 мМ цитохром с, хотя в подписи к рисунку правильно указано, что конечная концентрация цитохрома с в среде инкубации составляла 4 мкМ.

В отзыве отмечено, что диссертационная работа Аливердиевой Д.А. является добротной работой в области современной митохондриологии и содержит серьезные научные результаты, имеющие важное значение для развития биохимии, клеточной биологии и биомедицины. Несмотря на высказанные замечания, диссертационная работа Д.А. Аливердиевой в целом заслуживает высокой оценки. Критические комментарии вызваны интересом к представленным материалам и предложенным объяснениям.

Отзыв ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (положительный). Отзыв содержит следующие вопросы:

1. Интересно мнение автора о перспективах применения ингибиторного анализа для изучения структуры каналов нативных переносчиков в биологических мембранах.

2. Возможно ли изучение других переносчиков плазматической мембраны дрожжей с использованием предложенного подхода?

3. Какие ограничения имеет применение ингибиторного анализа в работе со сложными многокомпонентными системами?

4. Есть ли данные об успешном применении пороформирующих соединений в клинической практике последних лет и чем обусловлены ограничения их использования в рамках современных представлений?

В отзыве отмечается, что высказанные замечания и вопросы не носят принципиального характера, не затрагивают основных результатов и выводов диссертации, вызваны интересом к проводимым исследованиям и не снижают общей

положительной оценки работы. Диссертационная работа представляет собой завершенное научное исследование, автореферат и опубликованные автором научные труды в полной мере отражают содержание диссертации. Отмечено, что все выводы диссертации Д.А. Аливердиевой сделаны на основе результатов большого количества тщательно подготовленных и проведенных экспериментов, полностью соответствуют цели и задачам исследования, являются научно обоснованными и правомерными.

На автореферат поступили положительные отзывы от

Мирошникова Анатолия Ивановича, доктора химических наук, академика РАН, заведующего отделом Биотехнологии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, замечаний нет.

Захарова-Гезехуса Ильи Артемьевича, доктора биологических наук по специальности «генетика», профессора, члена-корреспондента РАН, главного научного сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, замечаний нет.

Сербы Елены Михайловны, доктора биологических наук, члена-корреспондента РАН, заместителя директора по научной работе Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии, филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», замечаний нет.

Поповой Татьяны Николаевны, доктора биологических наук, профессора, заведующей кафедрой медицинской биохимии и микробиологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», замечаний нет.

Терёшиной Веры Михайловны, доктора биологических наук, руководителя группы «Экспериментальной микологии» Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук. Отзыв не имеет замечаний, но содержит вопрос: проверялась ли жизнеспособность клеток дрожжей в ходе их длительной преинкубации при 0°C?

Василова Раифа Гаяновича, доктора биологических наук, профессора, заместителя руководителя по научной работе Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт», замечаний нет.

Кличханова Нисреда Кадиновича, доктора биологических наук по специальности «биохимия», профессора кафедры биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет». Отзыв не содержит замечания, затрагивающие содержательную часть работы. Отмечено наглядное и обстоятельное описание результатов, при этом большое количество сокращений несколько затрудняет чтение автореферата. Отзыв содержит вопрос: хотелось бы уточнить, есть ли в настоящее время пороформирующие антибиотики, официально разрешенные в мировой клинической практике и каковы перспективы их применения?

Градовой Нины Борисовны, доктора биологических наук по специальности

микробиология, профессора, консультанта кафедры биотехнологии Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева, замечаний нет.

Кушнирова Виталия Владимировича, доктора биологических наук, заведующего лабораторией молекулярной генетики Института биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, замечаний нет.

Шумянцева Виктории Васильевны, доктора биологических наук по специальности биохимия, профессора, заведующего лабораторией биоэлектрохимии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», профессора кафедры биохимии МБФ РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Принципиальных критических замечаний по автореферату нет. На странице 36 автор описывает некоторые различия в поведении высокоолигомерной и низкоолигомерной поры, однако автор не описывает разницу в размере этих пор. Более подробное описание высокоолигомерной и низкоолигомерной поры было бы интересно для конструирования пор различного диаметра.

В дискуссии приняли участие: д.б.н. Агафонов М.О., д.б.н. Юрина Н.П., д.х.н. Дзантиев Б.Б., д.б.н. Терёшина В.М., д.б.н. Топунов А.Ф., д.б.н. Левицкий Д.И.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований, получены следующие **основные результаты**:

1. Суспензия митохондрий в оксиметрической ячейке может быть использована в качестве бесконтактного биосенсора трансмембранного катионного тока. Проводимость, индуцированная во внутренней мембране митохондрий печени крысы, и степень активации окисления сукцината связаны линейной зависимостью.

2. Обнаружены два механизма самоассоциации пороформеров в мембране митохондрий: с замедлением образования непроводящей предпоры (для мелиттина и мастопарана) и с замедлением образования транспортирующего канала (для аламетицина и тетраацетилмелиттина). Эти механизмы отличаются медленным стабилизирующимся и быстрым не стабилизирующимся характером уменьшения величины трансмембранного потенциала, соответственно.

3. Показано, что стационарную калиевую проводимость, индуцированную в митохондриях низкоолигомерной формой аламетицина, можно измерить на фоне проводимости его высокоолигомерных форм. Пора, образованная аламетицином во внутренней мембране митохондрий, может содержать димеризованный пептид и липид.

4. Сформулированы, теоретически обоснованы и экспериментально подтверждены принципы использования амфифильных эффекторов при изучении трансмембранного транспорта и измерения активности нативных транспортеров в интактных системах.

5. Разработаны и усовершенствованы методы измерения кинетических параметров переносчиков *in situ*, основанные на использовании эндогенных систем окисления моно-, ди- и трикарбоксилатов в качестве сопряженных систем измерения транспорта этих

соединений. На основе этого подхода показано существование О-пальмитоил-L-малат-чувствительного транспортера дикарбоксилатов в плазмалемме *S. cerevisiae*.

6. Выявлены нехарактерные для транспортеров плазмалеммы грибов особенности нового переносчика дикарбоксилатов плазмалеммы *S. cerevisiae*: независимость транспорта от генерации мембранного потенциала, транспорт по механизму неэлектрогенного унипорта, широкая субстратная специфичность (сукцинат, цитрат, фумарат, итаконат, малонат, L- и D-малат), рН оптимум транспорта в щелочной области, рН-зависимое модулирование активности однозарядными катионами (Na^+ , K^+ , Tris^+).

7. Изучен активный центр нового транспортера дикарбоксилатов плазмалеммы *S. cerevisiae* с использованием непроникающих в клетку конкурентных ингибиторов (2-алкилмалонатов). В активном центре переносчика выявлена протяженная (1,84 нм) липофильная область на расстоянии 0,72 нм от точки связывания субстрата.

Научная новизна и теоретическая значимость работы

Получены новые данные, характеризующие первые этапы порообразования для мелиттина, мастопарана и аламетицина в энергизованных митохондриях печени крысы. Показана возможность использования суспензии высокосопряженных митохондрий в оксиметрической ячейке в качестве бесконтактного биосенсора трансмембранного катионного тока, индуцированного пептидами-пороформерами. Проводимость, индуцированная во внутренней мембране митохондрий печени крысы, и степень активации окисления ими сукцината связаны линейной зависимостью. Впервые показано, что с помощью такого подхода можно измерить стационарную калиевую проводимость, индуцированную в митохондриях низкоолигомерной формой аламетицина на фоне проводимости его высокоолигомерных форм в присутствии трансмембранного потенциала при низких пептид/липидных соотношениях, и оценить диаметр поры. Определено соотношение величин активации дыхания аламетицином, мелиттином или мастопараном в монокалиевой и монокальциевой средах при одинаковом значении мембранного потенциала. Высказано предположение о том, что в присутствии аламетицина и тетраацетилмелиттина проводимость лимитируется реакцией образования поры, а в присутствии мелиттина или мастопарана – стадией, предшествующей порообразованию. На основании обобщения многолетнего экспериментального материала разработана методология использования амфифильных эффекторов и изучения нативных транспортеров в интактных системах, методы измерения кинетических параметров интактных переносчиков *in situ*, основанные на использовании эндогенных систем окисления субстратов в качестве сопряженных систем измерения транспорта этих соединений. Подобраны условия, при которых митохондрии в клетках *S. cerevisiae* могут служить эндогенной сопряженной системой для измерения стационарных скоростей транспорта сукцината и пирувата через плазмалемму. Впервые показано, что в диапазоне от рН 5,5 до рН 7,5, транспорт сукцината через плазмалемму *S. cerevisiae* опосредован О-пальмитоил-L-малат чувствительным транспортером с нетипичными для плазмалеммы

грибов свойствами. Впервые с помощью непроникающих в клетку конкурентных ингибиторов 2-алкилмалонатов изучена структура канала транспортера вблизи точки связывания субстрата. Скорректированы модели трехмерных структур переносчика дикарбоксилатов плазмалеммы *S. cerevisiae* и ДКТ митохондрий печени крысы с разным механизмом функционирования.

Практическую значимость имеют разработанные или усовершенствованные методы использования амфифильных эффекторов и предложенные методические подходы к изучению нативных транспортеров в интактных органеллах и клетках, которые применимы для изучения и поиска малоактивных переносчиков окисляемых субстратов дрожжей. В отсутствие рентгеноструктурных данных о третичной структуре транспортеров дикарбоксилатов митохондрий печени крыс и плазмалеммы дрожжей, изучение активных центров переносчиков дикарбоксилатов с использованием линейки производных субстратов с монотонно увеличивающимся алифатическим заместителем может быть в настоящее время единственным источником информации о структуре их активных центров.

Методический подход, основанный на использовании суспензии высокосопряженных митохондрий в оксиметрической ячейке в качестве бесконтактного биосенсора трансмембранного катионного тока, примененный при изучении 4-х пептидов-пороформеров, можно в перспективе применить для изучения побочных эффектов 10-ти широко используемых в современной медицине пороформеров-антибиотиков и двух десятков пороформеров, которые по данным FDA находятся на второй стадии клинических испытаний. Предложенный подход позволяет выявить калиевую проводимость, индуцированную в митохондриях низкоолигомерной формой аламетицина на фоне проводимости его высокоолигомерных форм в присутствии $\Delta\psi$ при низких пептид/липидных соотношениях и оценить диаметр поры. Полученные результаты расширяют представление о механизмах возможного токсического действия пептидов-пороформеров и могут учитываться при разработке на их основе препаратов медицинского назначения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- использованные методики исследования и проведенные расчеты корректны
- достоверность полученных данных не вызывает сомнений
- выводы диссертационной работы обоснованы, подтверждены экспериментальными данными и отражают наиболее значимые результаты работы.

Личный вклад соискателя состоит:

в выборе направления и постановке задач диссертационного исследования, разработке и развитии новых методических подходов, анализе и обобщении экспериментальных данных, полученных лично автором или при его непосредственном участии, а также в

подготовке и оформлении материалов научных публикаций, в том числе при выполнении под его руководством работ по проектам РФФИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Аливердиевой Д.А. является законченной научно-квалификационной работой, что подтверждается наличием детального плана исследования, использованием широкого арсенала методов исследования, соответствующих поставленным задачам, большим объемом проведенных исследований, их новизной и практической значимостью. Выводы и положения диссертации, выносимые на защиту, вполне обоснованы и логически вытекают из представленных результатов, что подтверждается публикациями в ведущих рецензируемых журналах (24 статьи). Таким образом, данная работа выполнена на высоком методическом уровне, является актуальной как в области фундаментальных исследований в биохимии и микробиологии, так и для практического применения в биомедицине.

На заседании 27 июня 2024 года Диссертационный совет принял решение присудить Аливердиевой Динаре Алиевне ученую степень доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 12 докторов биологических наук, 7 докторов химических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета 24.1.233.01.

«За» присуждения ученой степени – 20

«Против» – нет

Недействительных бюллетеней – нет

Председатель диссертационного совета
ФИЦ Биотехнологии РАН
доктор химических наук, профессор, академик РАН



В.О. Попов

Ученый секретарь диссертационного совета
ФИЦ Биотехнологии РАН
кандидат биологических наук



А.Ф. Орловский

27.06.2024 г.