

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.241.02,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ, БИОТЕХНОЛОГИИ И
БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 03.03.2025 №15

О присуждении **Замятиной Анне Валерьевне**, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация на тему «Иммунохимический анализ С-терминального домена гемолизина II *Bacillus cereus*» по специальности 1.5.4 – «Биохимия» принята к защите 27 декабря 2024 г., протокол №11 , диссертационным советом 24.1.241.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»), 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14. Создание диссертационного совета утверждено приказом Минобрнауки России от 21 ноября 2022 г. №1531/нк с изменениями от 15 октября 2024 г. №993/нк.

Соискатель – **Замятина Анна Валерьевна**, 1996 года рождения, в 2020 году окончила БиоМедФарм Технологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пушкинский государственный естественно-научный институт» (г. Пушкино) по специальности 06.04.01 «Биология» с присвоением квалификации «Магистр». В 2020 году соискатель поступила и в 2024 г окончила очную аспирантуру федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» по направлению 06.06.01 «Биологические науки». По окончании аспирантуры присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь». С 2020 года и по настоящее время соискатель работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории токсикологии *in vitro* Филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ФИБХ РАН) (г. Пушкино).

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук выполнена в Пушкинском филиале Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» на базе лаборатории иммунохимии филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-04-00592.

Научный руководитель:

Руденко Наталья Васильевна - кандидат химических наук (специальность 02.00.10 – «Биоорганическая химия»), старший научный сотрудник лаборатории иммунохимии филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Дыкман Лев Абрамович - доктор биологических наук (специальности 03.00.04 – «Биохимия», 03.00.07 – «Микробиология»), ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, руководитель группы иммунотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

Шляпников Юрий Михайлович - доктор химических наук (специальность 1.5.6. «Биотехнология»), ведущий научный сотрудник со степенью доктора наук с возложением обязанностей заведующего лабораторией наноструктур и нанотехнологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук.

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация:

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г.о. Серпухов, п. Оболенск) в своём положительном отзыве, подписанном доктором медицинских наук, главным научным сотрудником лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций **Дентовской Светланой Владимировной** и кандидатом биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций **Копыловым Павлом Христофоровичем** указала, что диссертация Замятиной Анны Валерьевны на тему «Иммунохимический анализ С-терминального домена гемолизина II *Bacillus cereus*», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.4 «Биохимия», является завершённой научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи – определение функциональной роли С-концевого участка гемолизина II *Bacillus cereus* в порообразовании, вносящее существенный вклад в изучение бактериальных пороформирующих токсинов.

По своей актуальности, научной новизне, практической и теоретической значимости, а также объёму проведенного исследования диссертация Замятиной Анны Валерьевны на тему «Иммунохимический анализ С-терминального домена гемолизина II *Bacillus cereus*» полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, и ее автор, Замятина Анна Валерьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. «Биохимия».

По теме диссертации опубликовано **20** научных работ, из которых **5** – статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science, **15** – тезисов, опубликованных в материалах российских и международных конференций.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Zamyatina A.V., Rudenko N.V., Karatovskaya A.P., Shepelyakovskaya A.O., Siunov A.V., Andreeva-Kovalevskaya Z.I., Nagel A.S., Salyamov V.I., Kolesnikov A.S., Brovko F.A., Solonin A.S. «Monoclonal Antibody HlyII C 15 to C-End Domain HlyII *B. cereus* Interacts with the Trombin Recognition Site» // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. - 2020. – V. 46 - № 6. – P. 1214-1220. DOI: 10.1134/S1068162020060382

2. Rudenko N.V., Nagel A.S., **Zamyatina A.V.**, Karatovskaya A.P., Salyamov V.I., Andreeva-Kovalevskaya Z.A., Siunov A.V., Kolesnikov A., Shepelyakovskaya A.O., Bozиеv K.M., Melnik B.S., Brovko F.A., Solonin A.S. «A Monoclonal Antibody against the C-Terminal Domain of *Bacillus cereus*

Hemolysin II Inhibits HlyII Cytolytic Activity» // *Toxins*. – 2020. - V. 12 № 806.
DOI: 10.3390/toxins12120806

3. Rudenko N.V., Siunov A.V., **Zamyatina A.V.**, Melnik B, Nagel A.S., Karatovskaya A.P., Borisova M, Shepelyakovskaya A.O., Andreeva-Kovalevskaya Z.A., Kolesnikov A, Surin A, Brovko F.A., Solonin A.S. «The C-terminal domain of *Bacillus cereus* hemolysin II oligomerizes by itself in the presence of cell membranes to form ion channels» // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2022. - V. 200. - P. 416–427. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.013

На автореферат диссертации поступило 4 отзыва от:

1. **Мажориной Марии Анатольевны**, кандидата биологических наук, научного сотрудника группы спектроскопии белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт белка Российской академии наук;
2. **Еримбетова Кенеса Тагаевича**, доктора биологических наук, специалиста ООО «Научно-исследовательский центр «Превентивной информационной медицины».
3. **Гайдина Сергея Геннадьевича**, кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории клеточных механизмов нейропатологий Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ИБК РАН);
4. **Лейченко Елены Владимировны**, кандидата химических наук, заведующего лабораторией молекулярной фармакологии и биомедицины Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Все поступившие отзывы положительные, критических замечаний не содержат. В отзывах Гайдина С.Г. и Лейченко Е.В. имеются замечания уточняющего характера.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации основывался на высоком уровне их компетентности по разрабатываемой проблематике и на том, что они являются ведущими специалистами, имеющими публикации в области биохимии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

предложена новая оригинальная научная концепция о роли С-терминального домена гемолизина II *Bacillus cereus* в процессе пороформирования на мембране эритроцитов;

доказана способность С-терминального домена гемолизина II ориентированно взаимодействовать с мембранами эритроцитов и искусственными бислойными мембранами и образовывать олигомерные формы в их присутствии;

впервые **продемонстрировано** литическое действие С-терминального домена гемолизина II на клетки иммунной системы (Т-клетки линии Jurkat, макрофаги линии J774, моноциты ТНР-1);

произведена панель специфических моноклональных антител к С-терминальному домену β -пороформирующего токсина гемолизина II *B. cereus*, среди которых обнаружены антитела, способные штамм-специфически подавлять лизис эритроцитов, вызванный гемолизином II *B. cereus*;

продемонстрировано успешное использование моноклональных антител, как высокоточного инструмента исследования функционирования гемолизина II.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что:

получены новые данные о свойствах С-терминального домена гемолизина II *B. cereus*, которые способствуют пониманию механизмов формирования ионных каналов на мембране эритроцитов. Применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс современных иммунохимических, биохимических, клеточных, молекулярно-генетических и физико-химических методов анализов;

впервые сформулированы основные положения, характеризующие роль С-терминального домена в функционировании токсина;

установлен механизм подавления гемолиза эритроцитов штамм-специфическими моноклональными антителами, заключающийся в блокировании олигомеризации мономеров токсина;

определены количественные параметры, характеризующие взаимодействие С-терминального домена гемолизина II с различными типами клеток (кроличьими, мышинными и человеческими эритроцитами, Т-клетками линии Jurkat, макрофагами линии J774, моноцитами ТНР-1);

впервые **изучено** действие С-терминального домена гемолизина II *B. cereus* на клетки иммунной системы.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработана панель специфических моноклональных антител, узнающих полноразмерный гемолизин II *B. cereus*, которые перспективны как основа для разработки тест-систем детекции токсина;

получены и охарактеризованы моноклональные антитела, штамм-специфически блокирующие гемолитическую активность токсина, установлен механизм нейтрализующего действия;

расширены знания о функционировании β -пороформирующих токсинов, в частности, о формировании ионных каналов, необходимые для разработки нейтрализующих препаратов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

данные получены с использованием современного лабораторного оборудования на адекватных моделях с применением стандартизованных и доработанных протоколов и реактивов; эксперименты с использованием лабораторных животных были одобрены этическим комитетом;

теория построена на современных научных данных и фактах, в результате анализа первоисточников, проведенного автором диссертации, согласуется с результатами исследований по смежной тематике; дополняет имеющиеся теоретические и экспериментальные результаты относительно роли С-терминального домена в молекуле гемолизина II;

идея базируется на анализе литературных научных источников, описывающих особенности первичной и пространственной структур гемолизина II *V. cereus*;

использованы результаты иммунохимических и молекулярно-биологических экспериментов *in vitro*, а также исследований *in vivo* на лабораторных животных, проведенных в соответствии с российскими и международными этическими требованиями работы с лабораторными животными;

статистически достоверно установлены факты взаимодействия С-терминального домена с мембранами эритроцитов и олигомеризации в их присутствии; определены количественные параметры этого взаимодействия с различными типами клеток (кроличьими, мышинными и человеческими эритроцитами, Т-клетками линии Jurkat, макрофагами линии J774, моноцитами ТНР-1);

использованы стандартные методы статистической обработки данных с применением пакета Microsoft Office Excel 2016, Statistica v.7.1 и OriginLab 8. Репрезентативность выборок обеспечена достаточным количеством экспериментальных повторов.

Личный вклад соискателя заключался в планировании и проведении экспериментов на современном уровне в соответствии с теоретической задачей. Продемонстрировано квалифицированное владение иммунохимическими, биохимическими, клеточными, молекулярно-генетическими и физико-химическими методами. Работа над получением панели моноклональных антител и измерения на проточном цитофлуориметре были проведены автором с участием соответствующих специалистов. Соискатель выполнил статистическую обработку, провел анализ данных и участвовал в их представлении в виде публикаций и докладов на конференциях. Лично соискателем подготовлен автореферат и диссертационная работа.

Диссертационный совет отмечает на основании отзывов ведущей организации, оппонентов, научной дискуссии, что диссертация Замятиной Анны Валерьевны является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой установлена функциональная роль С-терминального домена в молекуле гемолизина *II B. cereus* с использованием полученных автором моноклональных антител в качестве инструмента исследования. Были выявлены антитела, способные штамм-специфически нейтрализовать действие гемолизина II; защитное действие подтверждено результатами экспериментов *in vitro* и *in vivo*. Впервые продемонстрирована способность С-терминального домена взаимодействовать с мембранами различных типов клеток. Впервые показана способность С-терминального домена формировать олигомерные структуры в присутствии мембран эритроцитов и искусственных бислойных мембран. Показано литическое действие С-терминального домена на клетки иммунной системы (Т-клетки линии Jurkat, макрофаги линии J774, моноциты ТНР-1). Данная работа вносит существенный вклад в понимание механизма действия порообразующего токсина гемолизина *II B. cereus*.

Диссертация Замятиной Анны Валерьевны на тему «Иммунохимический анализ С-терминального домена гемолизина II *Bacillus cereus*» соответствует требованиям п. 9-14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения учёных степеней» № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор достойна присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия». В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 03 марта 2025 года Диссертационный совет 24.1.241.02 принял решение присудить Замятиной А.В. ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – «Биохимия».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 26 человек, из них 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 31 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 26, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель Диссертационного Совета
24.1.241.02, академик РАН, профессор, д.м.н.



 Никитюк Д.Б.

Ученый секретарь Диссертационного Совета
24.1.241.02, к.б.н.

 Шумакова А.А.

Дата оформления заключения: «03» марта 2025 г.