

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.213.01 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 22 декабря 2023 г. № 15

О присуждении **Буйновской Нине Сергеевне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Гибридные бифункциональные лиганд-связывающие белки на основе высокоактивной щелочной фосфатазы морской бактерии *Cobetia amphilecti* КММ 296 (СтАР)» принята к защите «17» октября 2023, протокол № 9 диссертационным советом 24.1.213.01 на базе Тихоокеанского института биорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (далее ТИБОХ ДВО РАН 690022, г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159; приказ № 105/нк от 12.04.2012 г.).

Соискатель Буйновская Нина Сергеевна, 1993 года рождения, работает младшим научным сотрудником в ТИБОХ ДВО РАН.

В 2015 году соискатель окончила «Дальневосточный федеральный университет».

В 2019 году соискатель окончила аспирантуру при ТИБОХ ДВО РАН.

Научный руководитель – Балабанова Лариса Анатольевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории морской биохимии ТИБОХ ДВО РАН.

Официальные оппоненты:

Булгаков Виктор Павлович, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, руководитель подразделения лаборатории биоинженерии, главный научный сотрудник Федерального научного центра Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН и

Розанов Алексей Сергеевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научного центра трансляционной медицины АНО ВО Университета «Сириус», дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация – Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (ИБХ) РАН в своем положительном заключении, подписанном Козловым Сергеем Александровичем, доктором химических наук, заведующим лабораторией нейрорецепторов и нейрорегуляторов ИБХ РАН, указала, что по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости рецензируемая диссертационная работа Буйновской Нины Сергеевны на тему «Гибридные бифункциональные лиганд-связывающие белки на основе высокоактивной щелочной фосфатазы морской бактерии *Cobetia amphilecti* КММ 296 (CmAP)» полностью соответствует всем требованиям (пункты 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Буйновская Нина Сергеевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – «Биохимия».

Соискатель имеет 22 работы по теме диссертации: 1 патент, 14 тезисов докладов в Материалах научных конференций, в том числе 7 статей в ведущих рецензируемых зарубежных и отечественных научных журналах, определенных списком ВАК, в которых вклад автора является определяющим, среди них наиболее значимые работы:

1. Kovalchuk S. N., Buinovskaya N. S., Likhatskaya G. N., Rasskazov V. A., Son O. M., Tekutyeva L. A., Balabanova L. A. Mutagenesis studies and structure-function relationships for GalNAc/Gal-specific lectin from the sea mussel *Crenomytilus grayanus* // *Marine Drugs*. – 2018. – Vol. 16, N 12. – P. 471[1–10].

2. Buinovskaya N. S., Golotin V. A., Balabanova L. A., Kovalchuk S. N., Likhatskaya G. N., Rasskazov V. A. Effect of point mutations in carbohydrate-binding sites on the functionality of a lectin from *Crenomytilus grayanus* // *Achievements in the Life Science*. – 2016. – Vol. 10, suppl. – P. S6.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Старший научный сотрудник лаборатории ботаники Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток), к.б.н. Никулин В.Ю. в своем

положительном отзыве сообщил, что по автореферату отсутствуют замечания или дополнительные вопросы.

2. Ведущий научный сотрудник лаборатории диагностики болезней картофеля ФГБНУ «ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки», к.с.-х.н. Ким И.В. в своем положительном отзыве сообщила, что по автореферату отсутствуют замечания или дополнительные вопросы.

3. Старший научный сотрудник лаборатории молекулярной систематики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (ННЦМБ ДВО РАН)), к.б.н. Вайнутис К.С. в своем положительном отзыве сообщила, что по автореферату отсутствуют замечания или дополнительные вопросы.

4. Доцент кафедры биохимии и биотехнологии института Мирового океана (Школы) Дальневосточного федерального университета (ДВФУ, г. Владивосток), к.б.н. Баркина М. Ю. в своем положительном отзыве сообщила, что по автореферату отсутствуют замечания или дополнительные вопросы.

5. Старший научный сотрудник, исполняющий обязанности заведующего лабораторией клеточной биологии и биологии развития Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток), к.б.н. Горпеченко Т. Ю. в своем положительном отзыве отметила, что рис. 1 плохо читается, в автореферате несколько опечаток и иногда отсутствуют знаки пунктуации, но это не влияет на качество представленной работы. На рисунках 3, 4, 5 не показана достоверность отличий между экспериментальными значениями.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что они являются компетентными специалистами в данной области исследований, что подтверждается их публикациями. Выбор ведущей организации основан на том, что в ней проводятся работы по конструированию, получению и изучению рекомбинантных белков, в том числе с заданными свойствами, по биоинформационному анализу структуры белков и их комплексов, разработкам фармакологических препаратов и тест-систем на основе рекомбинантных белков и пептидов. Это подтверждается наличием большого количества

публикаций сотрудников организации в ведущих международных и российских изданиях.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований впервые разработаны экспрессирующие генетические конструкции, несущие гены лектина морской мидии *Crenomytilus grayanus* (CGL) и неспецифического порообразующего белка наружной мембраны возбудителя псевдотуберкулеза *Yersinia pseudotuberculosis* (OmpF), объединенные с геном высокоактивной щелочной фосфатазы (ЩФ) морской бактерии *C. amphilecti* КММ 296 (CmAP), для направленного синтеза рекомбинантных бифункциональных белков CmAP/CGL и CmAP/OmpF в клетках штамма *E. coli* Rosetta(DE3); выделены рекомбинантные гибридные белки CmAP/CGL и CmAP/OmpF и охарактеризованы их лиганд-связывающие и ферментативные свойства. Показана возможность их использования для выявления муциноподобных онкомаркеров и антител к возбудителю псевдотуберкулеза соответственно. Впервые обнаружена дефосфорилирующая активность рекомбинантной высокоактивной ЩФ морской бактерии CmAP в отношении бактериальных липополисахаридов, что является основой для разработки методов борьбы с эндотоксимией. В процессе выполнения работы впервые на основе результатов структурного анализа *in silico* получены тройные и одиночные мутантные формы галактозоспецифичного лектина CGL морской мидии. Мутантные формы CGL были использованы для изучения свойств лектина с помощью определения уровня активности ЩФ морской бактерии CmAP в комплексах «CmAP/CGL - лиганд». В результате этого удалось детализировать структуру сайтов связывания тримерного лектина CGL с углеводными детерминантами муциноподобных онкомаркеров, оценить вклад отдельных аминокислотных остатков активного центра CGL и установить механизм его взаимодействия с муцином и глоботриозой.

Теоретическая значимость работы заключается в возможности применения ее результатов для исследования структурно-функциональных особенностей лиганд-связывающих белков путем их мечения высокоактивной ЩФ CmAP. Результаты работы могут служить дополнением для теоретической

части лекционных курсов и образовательных программ в университетах и профильных институтах, а также могут быть включены в методические руководства.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается возможностью применения представленных данных для дальнейшего исследования взаимодействия лектинов и поринов с лигандами в клинических образцах пациентов, а также для структурно-функциональных исследований диагностических и терапевтических мишеней. Диссертационная работа является источником данных для разработки новых методов в области биотехнологии и медицины, в частности, для получения высокоспецифичных рекомбинантных лектинов и поринов и усовершенствования методов диагностики некоторых видов рака и иерсиниозов соответственно. Кроме того, в результате проведенных исследований выявлен терапевтический потенциал ЩФ морской бактерии.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что исследования были проведены на современном оборудовании с использованием стандартизированных методик и программ. Достоверность результатов исследования обеспечена применением современных генно-инженерных, биохимических, молекулярно-биологических и биоинформатических методов исследования, адекватных поставленным задачам. Результаты всех экспериментов статистически достоверны и получены с использованием сертифицированного оборудования. Предложенные и использованные в работе методы и подходы базировались на анализе литературных данных. Представленные результаты соответствуют мировому уровню данных, полученных ранее в этой области.

Личный вклад соискателя состоит в анализе литературных данных по теме исследования, планировании экспериментов, получении основной части результатов, подготовке научных публикаций и представлении результатов работы на Всероссийских и Международных конференциях и симпозиумах.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертационная работа Буйновской Н.С. является законченным научно-квалификационным

исследованием в области биохимии, результаты которого имеют теоретическую и практическую значимость как для фундаментальной науки в части понимания общих принципов организации и функционирования лиганд-связывающих белков, так и для прикладных исследований в области современной биотехнологии и медицины. По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, личному вкладу и полноте изложения результатов диссертация полностью удовлетворяет основным квалификационным критериям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям (пункты 9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а ее автор Буйновская Нина Сергеевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

На заседании 22 декабря 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Буйновской Н. С. 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

Чингизова Екатерина Александровна



22 декабря 2023 г.