

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 2 марта 2016 г. № 2

О присуждении **Пантелееву Павлу Валерьевичу**, гражданину РФ, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Структурно-функциональное исследование антимикробных пептидов животного происхождения» по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия принята к защите 28 октября 2015 г., протокол № 15, диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) (117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Пантелеев Павел Валерьевич, 1989 года рождения, в 2010 г. окончил дневное отделение Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» по специальности «биотехнология», в период подготовки диссертации с ноября 2010 года по ноябрь 2013 года являлся аспирантом очной формы обучения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. В настоящее время работает младшим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Диссертация выполнена в Учебно-научном центре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор химических наук **Овчинникова Татьяна Владимировна** – работает в должности заведующего отделом Учебно-научного

центра Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Северин Евгений Сергеевич, член-корреспондент РАН, доктор химических наук, профессор, заведующий отделом нанобиотехнологии Всероссийского научного центра молекулярной диагностики и лечения;

Баратова Людмила Алексеевна, доктор химических наук, профессор, заведующая отделом хроматографического анализа Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном доктором биологических наук, профессором Шишкиным Сергеем Сергеевичем, заведующим лабораторией биомедицинских исследований ФИЦ Биотехнологии РАН, указала, что по актуальности темы, объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Пантелеева Павла Валерьевича является законченным исследованием высокого теоретического и экспериментального уровня и соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), а сам диссертант, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия.

Соискатель имеет 21 опубликованную работу, по теме диссертации 18 работ, в том числе 6 статей объемом 3,75 печ. л. в научных журналах, цитируемых базой данных Web of Science. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной вклад:

1. Pavel V. Panteleev, Iliia A. Bolosov, Tatiana V. Ovchinnikova. Bioengineering and functional characterization of arenicin shortened analogs with enhanced antibacterial activity and cell selectivity. *J Pept Sci.* **2015**, doi: 10.1002/psc.2843.

2. Pavel V. Panteleev, Tatiana V. Ovchinnikova. Improved strategy for recombinant production and purification of antimicrobial peptide tachyplesin I and its analogs with high cell selectivity. *Biotechnol Appl Biochem.* **2015**, doi: 10.1002/bab.1456.

3. Pavel V. Panteleev, Iliia A. Bolosov, Sergey V. Balandin, Tatiana V. Ovchinnikova. Design of antimicrobial peptide arenicin analogs with improved therapeutic indices. *J Pept Sci.* **2015**, 21, 105-13.

4. П.В. Пантелеев, И.А. Болосов, С.В. Баландин, Т.В. Овчинникова. Структура и биологические функции β -спилочных антимикробных пептидов. *Acta Naturae.* **2015**, 7, 39-50.

На диссертацию поступили отзывы:

1. Официального оппонента чл.-корр. РАН Северина Е.С., отзыв положительный. Среди замечаний и пожеланий оппонентом было отмечено: для того, чтобы с уверенностью говорить об отсутствии кросс-устойчивости к АМП у мультирезистентных клинических изолятов, было бы желательно провести аналогичные испытания в отношении полимиксин-резистентных изолятов; было бы интересно провести испытания *in vivo* антимикробной активности пептидов, чтобы подтвердить сохранение высокой антибактериальной активности аналогов, продемонстрированное в условиях *in vitro*; в диссертации и автореферате присутствует ряд опечаток: например, в подписях к рис. 9Б автореферата и рис. 3б диссертации.

2. Официального оппонента д.х.н. Баратовой Л.А., отзыв положительный. Со стороны оппонента имеются замечания: приведенные в диссертации результаты свидетельствуют об эффективности используемых схем биосинтеза и очистки антимикробных пептидов, при этом автором не обсуждается вопрос масштабирования этих схем для получения перспективных аналогов в препаративных количествах с целью проведения расширенных биологических испытаний; в ходе исследования синергических антибактериальных эффектов также было бы желательно протестировать пары «антимикробный пептид – конвенциональный антибиотик»; не было бы лишним включить данные результатов эксперимента по подтверждению корректности замыкания дисульфидных связей в пептидах в материалы диссертации.

3. Ведущей организации, отзыв положительный. При ознакомлении с диссертацией возникли некоторые вопросы и замечания: в рамках диссертации не комментируется, какие величины терапевтических индексов характерны для вариантов АМП, отбракованных на стадии первичного скрининга; необходимо уточнить, с какими именно препаратами (или источниками информации) проводились

сравнительные исследования пептидов, поскольку текст диссертации не содержит информации о предоставленном препарате или самостоятельном выделении природного ареницина-1 из *Arenicola marina*.

На автореферат поступили отзывы:

1. Доктора биологических наук, профессора Хмель Инессы Александровны, заведующей лабораторией регуляции экспрессии генов микроорганизмов ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, отзыв положительный, замечаний нет.

2. Доктора технических наук, профессора Панфилова Виктора Ивановича, заведующего кафедрой биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», отзыв положительный, замечаний нет.

3. Доцентов кафедры биохимии и технологии микробиологических производств Уфимского государственного нефтяного технического университета, кандидата технических наук Прищепова Федора Александровича и кандидата химических наук Шахмаева Рината Нажибулловича, отзыв положительный, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их достижениями в областях науки, соответствующих теме представленной диссертации. Это подтверждается наличием у них значительного количества публикаций в ведущих российских и международных научных журналах и изданиях. Стоит отметить, что сотрудниками ФИЦ Биотехнологии РАН ведутся работы по изучению механизмов мембранотропного действия различных антимикробных пептидов. Научные интересы Северина Евгения Сергеевича и сотрудников руководимого им отдела связаны с получением и изучением рекомбинантных пептидов и белков с целью их применения в медицине. Под руководством Баратовой Людмилы Алексеевны активно изучаются вопросы связывания амфифильных белков и пептидов различного происхождения с биологическими мембранами. Наличие солидного опыта и высокой квалификации в приведенных выше областях позволяет им объективно судить о научной новизне, а также теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработаны методы биотехнологического получения рекомбинантных аналогов антимикробных пептидов животного происхождения (ареницинов,

тахиплезинов, гомезина, бактенецина ChVac3.4, аципенсина-1, аурелина, тритрптицина). Проведен сравнительный анализ их биологической активности, в том числе при совместном применении различных пептидов. Предложена оригинальная методика для сайт-направленного мутагенеза бета-шпилечных антимикробных пептидов. Доказана возможность использования природных β -шпилечных пептидов в качестве матрицы для создания более безопасных аналогов, сохраняющих высокую антибактериальную активность и мембранолитический механизм действия.

Теоретическая значимость исследования состоит в получении новых знаний о природных защитных пептидах, закладывающих основу для дальнейших исследований механизмов биологической активности этих веществ и изучения возможности их применения в медицинской и ветеринарной практике. В рамках диссертационной работы впервые проанализированы структурные особенности, биологическая активность и терапевтические индексы сконструированных пептидных антибиотиков в сравнении с природными аналогами, а также изучены их физико-химические свойства. На примере ареницина-1 показана ключевая роль димеризации пептида в проявлении высокой гемолитической активности.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что на базе природных антимикробных пептидов был разработан ряд терапевтически ценных мутантных аналогов, которые расширяют пул новых антибиотиков широкого спектра действия. Результаты диссертационной работы в дальнейшем могут найти практическое применение в различных областях медицины и ветеринарии.

Применительно к проблематике диссертации результативно, с получением обладающих новизной результатов использованы методы направленного мутагенеза, гетерологичной экспрессии и биоорганической химии для синтеза антимикробных пептидов, методы микробиологии и биохимии для скрининга их биологической активности, а также физико-химические методы анализа (спектрофотометрия, флуориметрия, КД-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия) для изучения механизма действия и пространственной структуры пептидов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что экспериментальные работы были проведены с использованием сертифицированного

оборудования и материалов, показана воспроизводимость результатов исследования. Теоретические предположения и концепции, использованные в работе, построены на основе современных опубликованных экспериментальных данных по теме диссертации, а полученные автором результаты с ними согласуются. В ходе выполнения работы были использованы современные методики биоорганической химии и биотехнологии, а также методы статистической обработки полученных данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выборе основных направлений и методов исследования, получении и анализе экспериментальных данных. Весь экспериментальный материал получен лично автором, за исключением данных об острой токсичности на мышах (лаборатория биологических испытаний ФИБХ РАН) и данных ЯМР-спектроскопии (лаборатория биомолекулярной ЯМР-спектроскопии ИБХ РАН). Автор лично участвовал в апробации результатов работы на конференциях. Подготовка основных публикаций по выполненной работе проводилась лично соискателем или при его непосредственном участии.

На заседании 2 марта 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Пантелееву Павлу Валерьевичу ученую степень кандидата химических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 6 докторов наук (по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета,
академик РАН

Ученый секретарь диссертационного совета,
д.ф.-м.н.



Иванов В.Т.

Олейников В.А.