

В диссертационный совет
Д 004.038.01 Института физиологии
Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра
«Коми научный центр Уральского отделения
Российской академии наук»

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора биологических наук Никифорова Алексея Константиновича на диссертационную работу Белозёрова Владислава Сергеевича «Механизмы взаимодействия макрофагов J774 с клетками иерсиний, оцененные методом атомно-силовой микроскопии», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Актуальность темы диссертационной работы.

В настоящее время инфекционные заболевания продолжают представлять угрозу для человека, являясь причиной смерти около трети ежегодно умирающих людей. В большинстве случаев это связано с ограниченностью или отсутствием методов лечения и профилактики заболеваний, а также со способностью бактерий приобретать устойчивость к уже традиционным методам лечения.

Диссертационное исследование Белозёрова Владислава Сергеевича посвящено комплексному изучению физиологических механизмов бактериальной адгезии в организме хозяина. Знание процессов, происходящих на клеточном и молекулярном уровнях во время проникновения патогена в организм, позволяет разрабатывать новые препараты для лечения бактериальных инфекций.

Ключевым механизмом действия таких препаратов является нарушение способности патогена прикрепляться к тканям хозяина, тем самым прерывая один из ключевых этапов инфекционного процесса. Это обуславливает актуальность темы исследования.

Новизна исследования.

Автором были получены приоритетные данные, имеющие существенную новизну. Так диссертантом был предложен подход для комплексного изучения силовых характеристик межмолекулярного взаимодействия бактериальных антигенов с поверхностью эукариоцитов методом атомно-силовой микроскопии с использованием совокупности критериев выбраковки и оценки силы связи. Показано, что неспецифические взаимодействия могут вносить существенный вклад в регистрируемое взаимодействие. Впервые была показана роль бактериальных антигенов иерсиний – липополисахаридов *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia pestis*, поринов OmpF и OmpC *Yersinia pseudotuberculosis*, и белков Ail и Psa *Yersinia pestis* – в процессе адгезии указанного патогена к поверхности макрофагов линии J774. Показано, что рецепторы TLR4 и CD14, расположенные на поверхности макрофагов, способны к специфическому связыванию липополисахарида *Yersinia pestis* EV.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций.

Работа выполнена на достаточном научно-методическом уровне с использованием современных методов исследования. Для достижения поставленной цели автором сформулировано 6 конкретных задач, направленных на разработку и апробацию подхода к комплексной оценке силовых характеристик межмолекулярного взаимодействия методом атомно-силовой микроскопии, а также на изучение функциональной значимости поверхностных антигенов бактерий рода *Yersinia* в их адгезивности к эукариотическим клеткам. Дизайн работы, методы исследования и статистического анализа полученных данных соответствует поставленным задачам. Результаты диссертационной

работы подкрепляются информативными рисунками и таблицами, что облегчает восприятие материала.

Основные положения, приведённые в тексте диссертации, были апробированы на международных и всероссийских научных конференциях. По теме диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 4 публикации в журналах, входящих в международные библиографические базы данных Scopus и Web of Science.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы.

Результаты исследования Белозёрова Владислава Сергеевича дополняют и углубляют научные знания в области изучения физиологических механизмов бактериальной адгезии в организме хозяина. Полученные автором данные позволяют расширить представление о значимости отдельных антигенов бактерий рода *Yersinia* в процессе их взаимодействия с клетками макроорганизма. Разработанные методические подходы к изучению механизмов адгезии могут быть востребованы при разработке новых подходов к терапии и профилактике бактериальных заболеваний.

Краткая характеристика основного содержания диссертации.

Диссертационная работа Белозёрова Владислава Сергеевича построена по традиционному принципу, изложена на 131 странице машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и списка литературы.

Во введении отражены актуальность и степень разработанности темы исследования, цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, положения, выносимые на защиту, сведения об апробации и внедрении результатов исследования, личный вклад.

В обзоре литературы соискатель приводит характеристику бактерий рода *Yersinia* и их основных антигенов, описание современных подходов к изучению межмолекулярных взаимодействий с глубоким анализом особенностей использованного в работе метода силовой спектроскопии, критериев оценки силовых характеристик, факторов, влияющих на определяемую силу взаимодействия.

В материалах и методах указан перечень использованного оборудования и реактивов, приведено описание способов подготовки образцов, проведения экспериментальных исследований и статистического анализа полученных результатов.

В главе «Результаты исследований и их обсуждение» автором достаточно подробно изложены результаты проведённых экспериментальных исследований. В первом разделе указанной главы приводятся данные пробоподготовки и апробации метода атомно-силовой микроскопии на модельной системе «молекула-молекула» для определения условий оценки силовых характеристик взаимодействия антигенов бактерий рода *Yersinia* с поверхностью макрофагов J774, которой посвящен второй раздел. Данные сопровождаются наглядным материалом в виде иллюстраций и таблиц. Содержание раздела свидетельствует о большом объёме работы, проделанном соискателем.

В заключении приводится обобщение полученных результатов исследования, подводятся итог проделанной работы.

Выводы, изложенные в диссертации, являются обоснованными, соответствуют поставленным цели и задачам исследования, достаточно полно отражают основные результаты работы.

Библиография насчитывает 200 источников научной литературы, в том числе 191 в зарубежных изданиях.

Соответствие специальности.

Диссертационное исследование Белозёрова Владислава Сергеевича соответствует следующим областям паспорта специальности – Физиология: человека и животных, биологические науки:

3. Исследование закономерностей функционирования основных систем организма (иммунной).

6. Изучение механизмов функционирования клеток, тканей, органов, принципов их системной организации.

10. Разработка новых методов исследований функций животных и человека.

11. Изучение молекулярной и интегративной организации физиологических функций.

Вопросы и замечания по диссертационной работе.

Принципиальных замечаний к работе нет, однако в процессе изучения диссертации возникло несколько вопросов:

1. Какова природа сил неспецифического связывания в системе «липополисахарид *Y. pestis* – макрофаг J774»?

2. Можно ли корректным считать силу специфической составляющей связи в системе «липополисахарид *Y. pseudotuberculosis* – антитела» как разницу между значениями показателя «амплитуда последнего отрыва» для комплементарных и гетерологичных моноклональных антител? Почему эти значения оказались резко различающимися в двух опытах, результаты которых представлены в табл. 5 и 6?

3. К сожалению, в описании процедуры осуществления силовой спектроскопии не указано значение pH среды, в которой оценивалась сила межмолекулярного взаимодействия, а этот показатель является значимым в такого рода экспериментах.

4. Было бы весьма интересно узнать из текста диссертации перспективы дальнейших исследований по данному направлению.

Заключение

По актуальности, новизне, достоверности полученных результатов, обоснованности сделанных выводов, научной и практической значимости диссертационная работа Белозёрова Владислава Сергеевича на тему «Механизмы взаимодействия макрофагов J774 с клетками иерсиний, оцененные методом атомно-силовой микроскопии» соответствует специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных, биологические науки, представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, содержащую решение задачи, которая имеет существенное значение для развития физиологии. Диссертация обладает внутренним единством. Содержание опубликованных работ и автореферат раскрывают основные положения и выводы диссертационного исследования.

Диссертационная работа Белозёрова Владислава Сергеевича полностью соответствует требованиям раздела II, п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 (ред. от 18.03.2023), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

Никифоров Алексей Константинович,

доктор биологических наук,

специальности: 03.02.03 – Микробиология; 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Федеральное казенное учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,

заместитель директора по экспериментальной и производственной работе, администрация,

410005, Саратовская область, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46,

Телефон: (8452) 516965,

e-mail: Nikiforov_AK@microbe.ru

Никифоров Алексей Константинович

05.07.2023 г.

Подпись Никифорова Алексея Константиновича заверяю

Начальник отдела кадров Шумигой О.В.



Федеральное казенное учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес: 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46

Телефон: +7 (8452) 26-21-31 Электронная почта: gusrapi@microbe.ru

В диссертационный совет Д 004.038.01
Института физиологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии наук
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра
"Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук"

СВЕДЕНИЯ ОБ ОФИЦИАЛЬНОМ ОППОНЕНТЕ

По диссертации **Белозёрова Владислава Сергеевича «Механизмы взаимодействия макрофагов J774 с клетками нервного, оцененные методом атомно-силовой микроскопии»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

№п/п	Фамилия. Имя, Отчество	Дата рождения	Основное работы, должность	Ученая степень, звание	Шифр и специальность, по которой защищена диссертация	Основные работы в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет по профилю оппонируемой диссертации
1	2	3	4	5	6	7
1	Никифоров Алексей Константинович	11.11.1962	Федеральное казенное учреждение науки «Российский научный исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заместитель директора по экспериментальной и производственной работе	доктор биологических наук, профессор	03.02.03 Микробиология, 03.01.06 Биотехнология (в том числе бианотехнологические), биологические науки	1. Krasnov Y.M. Whole genome sequencing and phylogenetic analysis of the rabies virus strain Moscow 3253 adapted to a vero cell line / Y.M. Krasnov, Z.V. Alkhova, S.V. Generalov, I.V. Tuchkov, E.A. Naryshkina, N.A. Sharapova, E.G. Abramova, A.K. Nikiforov // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. – 2020. – V. 35. – N. 4. – P. 237-242. Scopus, BAK. 2. Dykman L.A. Obtaining and characteristic of antibodies to <i>Vibrio cholerae</i> protective antigens conjugated with gold nanoparticles / L.A. Dykman, S.Y. Shchyogolev, O.A. Volokh, O.V. Kireev, L.F. Livanova, Durakova, S.A. Vorobeva, M.N. Kireev, L.F. Livanova, A.K. Nikiforov, V.V. Kutyrev // Doklady Biochemistry and Biophysics. – 2020. – V. 490. – N. 1. – P. 19-21. Scopus, BAK. 3. Кузнецова Е.М. Комплекс BFR-O-антиген

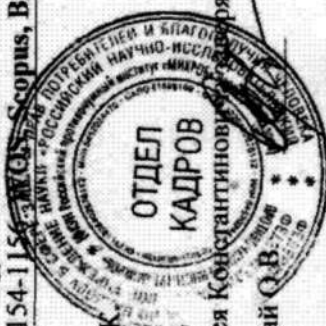
			410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 +7 (8452) 51-69-65 Nikiforov_AK@microb e.ru https://www.microbe.ru/	внешних мембран <i>Francisella tularensis</i>: получение, характеристика, возможности использования / Е.М. Кузнецова, О.А. Волох, Я.М. Краснов, Т.А. Полунина, Н.Г. Авдеева, Ю.И. Самохвалова, Д.В. Баданин, М.Н. Киреев, В.Г. Германчук, А.К. Никифоров // Биотехнология. – 2019. – V. 35. – № 1. – P. 73-81. Scopus, BAK, RSCI. 4. Dykman L.A. Immunogenicity of conjugates of protective antigen complexes of <i>Tularemia microbe</i> with gold nanoparticles / L.A. Dykman, O.A. Volokh, E.M. Kuznetsova, A.K. Nikiforov // Nanotechnologies in Russia. – 2018. – V. 13. – N. 7-8. – P. 384-392. WOS, Scopus, BAK. 5. Аленкина Т.В. Изучение иммуногенных свойств антигенов <i>Y. pestis</i> EV11MP FSK3 / Т.В. Аленкина, Е.Л. Воропаева, Г.В. Бочкарева, А.К. Никифоров, О.А. Волох // Инфекция и иммунитет. – 2012. – V. 2. – N. 1-2. – P. 236. Scopus, BAK. 6. Kuznetsova E.M. Components of the <i>Francisella tularensis</i> protective antigen complex / E.M. Kuznetsova, O.A. Volokh, I.A. Shepelev, A.K. Nikiforov // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. – 2012. – V. 27. – N. 3. – P. 112-116. Scopus, BAK. 7. Anisimov A.P. Construction of a <i>Yersinia pestis</i> strain with high protective activity / A.P. Anisimov, A.K. Nikiforov, S.A. Eremin, I.G. Drozdov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 1995. – V. 120. – N. 5. – P. 1154-1156. Scopus, BAK.
--	--	--	--	---

Согласен на обработку персональных данных.

Официальный оппонент

Никифоров А.К.

07, июля 2023 г.



Подпись Никифорова Алексея Константиновича

Начальник отдела кадров Шумигой О.В.

07.07.23

Министерство образования и науки Российской Федерации
(заменяющее органы, принимающие решение о выдаче диплома)

Приказ от 13 сентября 2014 г. № 558/м-3



Серия

ЛНД

№

000021

*

Л.М. Огородова

(подпись)

г. МОСКВА

Решением диссертационного совета
по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук,
на соискание ученой степени доктора наук, созданного на базе

*Института биологии и физиологии растений и
агрофизики ДРБН*

от 21 мая 2014 г.

№ 8

Никифорову Алексею Константиновичу

ПРИСУЖДЕНА УЧЕНАЯ СТЕПЕНЬ

ДОКТОРА

биологических наук



Никифоров Л.

*Подпись Н.К. Огородова
Никифоров Л.К. за подписью О.В.
Никифорова*

07.07.2014

**РАЗРАБОТКА НАУЧНО-ПРИКЛАДНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ
ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ И БЕШЕНСТВА**

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Саратов, 2014

Подпись Никитерова К. Г. 02.02.2023
Начальник отдела Шуринский О.С.