

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 Носкова Анатолия Николаевича 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 исследования.** Диссертационное исследование Белозёрова Владислава Сергеевича посвящено одному из современных вопросов клеточной физиологии: исследованию механизмов адгезии бактерий на поверхности эукариотических клеток. В своей работе автор проводит оценку силовых характеристик межмолекулярного взаимодействия бактериальных антигенов иерсиний, которые могут принимать непосредственное участие в процессе адгезии патогена, с поверхностью макрофагов линии J774. В настоящее время наблюдается рост числа публикаций, связанных с изучением физиологических механизмов функционирования клеток, тканей и органов на молекулярном уровне. Благодаря таким экспериментальным данным можно расширить представления о природе явлений, лежащих в основе взаимодействия патогена с эукариотической клеткой. Такие знания позволяют глубже понять ключевые этапы механизмов развития инфекционных заболеваний. Способность влиять на эти механизмы путём применения тех или иных антибактериальных агентов открывает возможности для разработки новых средств профилактики и лечения бактериальных инфекций. Таким образом, выбранная тема исследования является актуальной.

**Научная новизна исследования.** В своей работе Белозёров В.С. приводит результаты разработки оригинального варианта метода атомно-силовой микроскопии для

осуществления количественной оценки механизмов адгезии патогена в организме хозяина на модельных системах «антиген – макрофаг» и «антиген – антитело». Автором были предложены и апробированы критерии программной выбраковки силовых кривых, показана эффективность применения совокупности критериев оценки силовых характеристик взаимодействия бактериальных антигенов с поверхностью эукариотической клетки. Было установлено, что значительный вклад в регистрируемую силу адгезии могут вносить неспецифические составляющие. С использованием разработанных автором методических подходов впервые была показана роль в процессе адгезии иерсиний к мышинным макрофагам J774 препаратов липополисахарида и поринов OmpC и OmpF *Yersinia pseudotuberculosis*, а также липополисахарида и белков Ail и Psa *Yersinia pestis* EV. Установлен вклад поверхностных рецепторов TLR4 и CD14 в связывании макрофагов этой линии с липополисахаридом *Yersinia pestis* EV.

**Научно-практическая значимость полученных результатов.** Результаты диссертационной работы Белозёрова Владислава Сергеевича имеют важное научно-практическое значение для понимания на молекулярном уровне физиологических процессов, происходящих в организме животных при инвазии патогена в организм хозяина и развитии заболеваний, вызванных бактериями рода *Yersinia*. Разработанные методические подходы и полученные результаты могут быть востребованы при разработке новых антибактериальных препаратов, основным механизмом действия которых является снижение способности бактериальных клеток к адгезии на тканях хозяина.

**Обоснованность и достоверность полученных результатов.** Все научные положения, содержащиеся в диссертационной работе Белозёрова В.С., сформулированы на основе тщательного теоретико-методологического анализа и всестороннего изучения данных, полученных в ходе исследований. Автором был проанализирован значительный объем научной литературы, в которой отражены методы, условия и результаты проведения силовой спектроскопии в различных системах для оценки силовых характеристик межмолекулярного взаимодействия. Это позволило автору обосновать и использовать в работе корректный алгоритм проведения измерений методом силовой спектроскопии и обработки первичных данных.

Высокая репрезентативность выборки, использование адекватных поставленной цели и задачам современных и комплексных подходов к изучению силовых характеристик взаимодействия между молекулами, общепринятых методов статистического анализа полученных результатов указывают на формирование достоверных выводов и

рекомендаций. Сформулированные положения и выводы были апробированы на международных и всероссийских конференциях.

По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 4 публикации были размещены в журналах, входящих в международные базы цитирования Web of Science и Scopus.

**Структура и содержание диссертации.** Работа написана в традиционном стиле, изложена на 131 странице машинописного текста и состоит из введения, трёх глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований и их обсуждение), заключения и выводов. Список литературы включает 200 наименований, из которых 9 отечественных и 191 иностранная. Работа содержит 15 рисунков и 12 таблиц.

Раздел «Введение» включает актуальность темы исследования, степень её разработанности, цель и задачи, научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, методологию исследования, положения, выносимые на защиту, информацию по апробации и внедрению результатов исследования, личный вклад автора.

В «Обзоре литературы» приведён развёрнутый анализ научных работ, отражающих современные научные подходы в рамках исследуемой проблемы. Приводится характеристика поверхностных антигенов бактерий рода *Yersinia*, всесторонне рассматриваются методические подходы к подготовке и проведению силовой спектроскопии в различных системах, обсуждаются основные критерии, которые используются для оценки силовых характеристик межмолекулярного взаимодействия.

Глава «Материалы и методы» посвящена описанию объекта исследования и основных методов, использованных в работе. В ней указано основное оборудование и реактивы, а также описаны методы пробоподготовки и проведения экспериментов. Описаны применяемые методы статистического анализа.

В главе «Результаты исследований и их обсуждение» описан ход проведения исследований, представлены полученные результаты, наглядно и в полной мере проиллюстрированные рисунками и таблицами. Описание результатов сопровождается обсуждением вероятных механизмов наблюдаемых физиологических процессов. Полученные результаты исследования сопоставляются с данными других авторов.

В «Заключении» кратко обобщаются полученные результаты и подводятся итоги научной работы.

Автором диссертации сформулировано 6 выводов, которые обоснованы, логичны и полностью соответствуют содержанию, цели и задачам исследования.

Диссертационная работа содержит достаточное количество исходных данных, анализ результатов проведён корректно, что подтверждает достоверность приведённых выводов. Представленные в диссертации результаты содержат научную новизну и являются оригинальными.

Автореферат диссертации в краткой форме отражает все основные положения работы.

**Соответствие специальности.** Диссертация Белозёрова В.С. соответствует следующим областям паспорта специальности 1.5.5. – 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.**

При прочтении и анализе диссертационной работы Белозёрова В.С. принципиальных замечаний не возникло. В целом диссертационную работу можно оценить положительно.

В то же время при изучении представленных материалов возник ряд частных вопросов и замечаний, мнение автора по которым хотелось бы знать:

1. Насколько значима «Амплитуда первого отрыва», если этот отрыв не единственный, в качестве критерия оценки силы оцениваемого специфического взаимодействия?

2. Можно ли безоговорочно переносить доказательство факта сенсibilизации липополисахаридом слюды на факт сенсibilизации этим антигеном зонда?

3. Почему измерения проводились при комнатной температуре, а не при температуре 37 °С, соответствующей физиологическим условиям жизнедеятельности эукариотических клеток *in vivo*?

## Заключение

Диссертационная работа Белозёрова Владислава Сергеевича «Механизмы взаимодействия макрофагов J774 с клетками иерсиний, оцененные методом атомно-силовой микроскопии», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных, является самостоятельной завершённой научно-квалификационной работой, результаты которой дополняют научные знания в области клеточной и молекулярной физиологии.

Представленная диссертационная работа по своей актуальности, новизне, значимости и объёму проведённого исследования соответствует требованиям 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 ему учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных.

Официальный оппонент: Носков Анатолий Николаевич

Доктор биологических наук,

Специальность: Диссертационная работа выполнена по закрытой тематике.

Руководитель группы клостридиозов лаборатории иммунобиотехнологии

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России

Адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Телефон: +7 (499) 193-30-01

Электронная почта: [info@gamaleya.org](mailto:info@gamaleya.org)



Носков А.Н.

«07» июля 2023 г.

Подпись Носкова А.Н. заверяю

Ученый секретарь ФГБУ "НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России  
профессор Н.Н.Костюков



07.07.2023

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 персиний, 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 место работы, должность	Ученая степень, звание	Шифр и специальность, по которой была защищена диссертация	Основные работы в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет по профилю оппонируемой диссертации
1	2	3	4	5	6	7
1	Носков Анатолий Николаевич	08.08.1954	Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи Минздрава России, руководитель группы клостридиозов лаборатории иммунобиотехнологии 123098, г.Москва, ул. Гамалеи, д. 18. +7 (499) 193-30-01. info@gamaleya.org	доктор биологических наук	Диссертационная работа выполнена по закрытой тематике.	1: Panova EA, Kleymenov DA, Shcheblyakov DV, Bykonina EN, Mazunina EP, Dzharullaeva AS, Zolotar AN, Derkaev AA, Esmagambetov IB, Sorokin II, Usachev EV, <b>Noskov AN</b> , Ivanov IA, Zatsepin TS, Dmitriev SE, Gushchin VA, Naroditsky BS, Logunov DY, Gintzburg AL. Single-domain antibody delivery using an mRNA platform protects against lethal doses of botulinum neurotoxin A. Front Immunol. 2023 Feb 14;14:1098302. doi: 10.3389/fimmu.2023.1098302. PMID: 36865543; PMCID: PMC9971915. <b>PubMed</b> 2: Derkaev AA, Ryabova EI, Esmagambetov IB, Shcheblyakov DV, Godakova SA, Vinogradova ID, <b>Noskov AN</b> , Logunov DY, Naroditsky BS, Gintzburg AL. rAAV expressing recombinant neutralizing antibody for the botulinum neurotoxin type A prophylaxis. Front Microbiol. 2022 Sep 27;13:960937. doi:0.3389/fmicb.2022. 60937. PMID: 36238585;

					<p>PMCID: PMC9551282. <b>PubMed</b>  3: Godakova SA, <b>Noskov AN</b>, Vinogradova ID, Ugriumova GA, Solovyev AI, Esmagambetov IB, Tukhvatulin AI, Logunov DY, Naroditsky BS, Shcheblyakov DV, Gintsburg AL. Camelid VHHs Fused to Human Fc Fragments Provide Long Term Protection Against Botulinum Neurotoxin A in Mice. <i>Toxins (Basel)</i>. 2019 Aug 7;11(8):464. doi: 10.3390/toxins11080464. PMID: 31394847; PMCID: PMC6723419. <b>PubMed</b>  4: Rudenko NV, Karatovskaya AP, <b>Noskov AN</b>, Shepelyakovskaya AO, Shchannikova MP, Loskutova IV, Artyemieva OA, Nikanova DA, Gladyr EA, Brovko FA. Immunochemical assay with monoclonal antibodies for detection of staphylococcal enterotoxin H. <i>J Food Drug Anal.</i> 2018 Apr;26(2):741-750. doi: 10.1016/j.jfda.2017.10.011. Epub 2017 Dec 2. PMID: 29567245; PMCID: PMC9322225. <b>PubMed</b></p>
--	--	--	--	--	---

Согласен на обработку персональных данных.

Официальный оппонент

«07» июля 2023 г.

Подпись Носкова А.Н. заверяю

Носков А.Н.

Ученый секретарь ФГБУ "НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России



профессор Н.Н.Костюкова

07.07.2023

# ДИПЛОМ ДОКТОРА НАУК



Др № 001895

Москва

Решением  
Высшего аттестационного комитета  
Российской Федерации

от 24 июня 1994 г. № 299/7

*Носкову Анатолию Николаевичу*

ПРИСУЖДЕНА УЧЕНАЯ СТЕПЕНЬ

**ДОКТОРА**

*биологических наук*



Председатель  
Высшего аттестационного комитета  
Российской Федерации

Главный ученый секретарь  
Высшего аттестационного комитета  
Российской Федерации

*W.S.F.*

Копию диплома д.б.н. Носкова А.Н. заверяю

Ученый секретарь ФГБУ "НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России

профессор Н.Н.Костюкова

«07» июля 2023 г.



Председателю диссертационного совета  
Д 004.038.01 ИФ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН  
д.м.н., профессору Бойко Е.Р.  
167982 Сыктывкар, ГСП-2, Первомайская, 50  
от доктора биологических наук  
Носкова Анатолия Николаевича  
123098, г. Москва, ул. Гамалеи, дом 18  
Тел.: +7 (499) 193-30-01  
Факс: +7 (499) 193-61-83  
E-mail: info@gamaleya.org

### ЗАЯВЛЕНИЕ

Сообщаю, что диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук Носкова Анатолия Николаевича (копия диплома прилагается) выполнена по закрытой тематике.

Официальный оппонент



д.б.н. Носков Анатолий Николаевич

07 июля 2023 года

Подпись Носкова А.Н. заверяю

Ученый секретарь ФГБУ "НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи" Минздрава России  
профессор Н.Н.Костюкова 07.07.2023

