

Заключение диссертационного совета 24.1.158.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 30 ноября 2021 г. № 156.

О присуждении Копейкину Павлу Максимовичу ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярные основы антимикробного и противоопухолевого действия природного пептида кателицидина ChVac3.4 и его структурных модификаций» по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 1.5.4. Биохимия принята к защите 21 сентября 2021 г. (Протокол № 148) диссертационным советом 24.1.158.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12 (утвержден приказом Минобрнауки Российской Федерации №105/нк от 11.04.2012).

Соискатель — Копейкин Павел Максимович, 1986 года рождения. В 2013 году окончил химический факультет Санкт-Петербургского государственного университета по специальности «Химия» (квалификация специалист), в 2015 году окончил биологический факультет Санкт-Петербургского государственного университета по специальности «Биология» (квалификация магистр). Очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Институт экспериментальной медицины» окончил в 2019 году. В период подготовки диссертации соискатель Копейкин Павел Максимович работал в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Институт

экспериментальной медицины» в должности младшего научного сотрудника. В настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в Научном центре мирового уровня «Передовые цифровые технологии», НИК «Цифровые технологии в медико-биологических системах» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» и ООО «АйКьюКемикал».

Диссертационная работа выполнена в отделе общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования России.

Научные руководители:

1) Шамова Ольга Валерьевна, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, заведующая отделом общей патологии и патофизиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;

2) Жаркова Мария Сергеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории дизайна и синтеза биологически активных пептидов отдела общей патологии и патофизиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины».

Официальные оппоненты:

1) Линькова Наталья Сергеевна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярных механизмов старения отдела биогеронтологии Автономной научной некоммерческой организации высшего образования Научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии»;

2) Антонов Виктор Георгиевич — доктор медицинских наук, доцент кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в своём положительном заключении, подписанном Митрейкиным Владимиром Филипповичем, доктором медицинских наук, профессором кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ» им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России и Васиной Любовью Васильевной, доктором медицинских наук, заведующей кафедрой биологической химии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, и утвержденном Полушиным Юрием Сергеевичем, академиком РАН, доктором медицинских наук, профессором, проректором по научной работе ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, указала, что диссертационное исследование является самостоятельной законченной квалификационной научно-практической работой, выполненной на стыке двух специальностей и соответствующей паспортам специальностей «патологическая физиология» и «биохимия», в результате которой разработаны, синтезированы, охарактеризованы структурные аналоги бактенецина ChVac3.4 и предложены наиболее перспективные с точки зрения соотношения антимикробной и цитотоксической активности варианты для дальнейшего изучения и разработки кандидатных препаратов на их основе.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, их широкой известностью своими достижениями в рассматриваемой области медико-биологических наук.

Соискатель имеет 21 публикацию по теме диссертации, в том числе 4 статьи, которые опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных

ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций, общим объемом 3,9 условного печатного листа, авторский вклад составил 90%.

Диссертация не содержит некорректных заимствований.

Наиболее значимые работы:

1. Шамова О.В., Жаркова М.С., Копейкин П.М., Орлов Д.С., Корнева Е.А. Механизмы действия антимикробных пептидов бактеницинов СНВАС3.4, СНВАС5 и MINI-СНВАС7.5NB на бактериальные клетки // Патогенез. 2017. Т. 15, № 3. С. 43–50.

2. Жаркова М.С., Копейкин П.М., Афиногенов Г.Е., Орлов Д.С., Артамонов А.Ю., Сафиуллина К.Э., Сухарева М.С., Цветкова Е.В., Мильман Б.Л., Афиногенова А.Г., Шамова О.В. Действие пролин-богатых пептидов врожденного иммунитета на антибиотикоустойчивые штаммы бактерий // Медицинская иммунология. 2018. Т. 20, № 1. С. 107–114. doi: 10.15789/1563-0625-2018-1-107-114

3. Артамонов А.Ю., Сухарева М.С., Копейкин П.М., Сухачев А.Н., Филатенкова Т.А., Орлов Д.С., Шамова О.В. Эффекты пролин-богатых пептидов на функциональную активность лейкоцитов человека *in vitro* // Российский иммунологический журнал. 2019. Т. 13 (22), №2. С. 710–713.

4. Kopeikin P.M., Zharkova M.S., Kolobov A.A., Smirnova M.P., Sukhareva M.S., Umnyakova E.S., Kokryakov V.N., Orlov D.S., Milman B.L., Balandin S.V., Panteleev P.V., Ovchinnikova T.V., Komlev A.S., Tossi A., Shamova O.V. Caprine Bactenecins as Promising Tools for Developing New Antimicrobial and Antitumor Drugs // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2020. V.10. E.552905. doi: 10.3389/fcimb.2020.552905.

На автореферат поступили отзывы от:

1) Инжеваткина Евгения Владимировича, доктора биологических наук, доцента кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет

имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

2) Янковского Олега Юлиановича, доктора биологических наук, заведующего отделом медицинской биотехнологии Общества с ограниченной ответственностью «ГлобусМед».

3) Поляковой Виктории Олеговны, доктора биологических наук, профессора РАН, профессора кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Отзывы положительные, принципиальных критических замечаний и вопросов не содержат.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

убедительно продемонстрирована возможность оптимизации свойств природных антимикробных пептидов группы кателицидинов путём химических модификаций для создания перспективных кандидатных молекул, эффективных против мультирезистентных бактериальных патогенов, в том числе формирующих биоплёнки; **определены**, на основании **впервые проведённого** углублённого структурно-функционального анализа, основные участки, отвечающие за реализацию как антимикробных, так и цитотоксических свойств высокоактивного богатого пролином кателицидина ChVac3.4 в отношении нормальных и опухолевых эукариотических клеток, вследствие чего **выявлено** значительное пространственное разделение соответствующих функциональных участков, позволяющее наметить пути изменения селективности действия и снижения побочной токсичности подобных пептидов; **предложен оригинальный подход**, позволяющий сохранить высокий антимикробный потенциал природного ChVac3.4, снизить его токсичность в отношении клеток человека и одновременно существенно

сократить длину молекулы за счёт удвоения первого аминокислотного триплета RFR N-концевого фрагмента пептида (1–14); **доказано**, что определённое сочетание структурных фрагментов пролин-богатого антимикробного пептида способно повысить селективность цитотоксического действия молекулы в отношении опухолевых клеток в сравнении с нормальными без индукции гемолитических свойств, тем самым **впервые продемонстрирован** противоопухолевый потенциал богатых пролином антимикробных пептидов, в том числе *in vivo*; **показана** синергетическая активность комбинаций пролин-богатых антимикробных пептидов с конвенциональными антибиотиками в отношении мультирезистентных бактериальных штаммов, устойчивых в том числе к данным антибиотикам, что подчёркивает эффективность антимикробных пептидов для преодоления существующей резистентности; **впервые экспериментально подтверждено**, что механизм реализации антимикробной активности аналогов пептида бактенецина ChVac3.4 включает в себя как прямую мембранолитическую активность, так и взаимодействие с внутриклеточными мишенями бактериальной клетки.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: совокупность представленных в диссертационном исследовании данных **вносит вклад** в развитие существующих в области патофизиологии и биохимии представлений о молекулярных механизмах реализации эффектов богатых пролином антимикробных пептидов млекопитающих, являющихся важными защитными факторами системы врожденного иммунитета, на бактериальные и эукариотические клетки.

Применительно к проблематике диссертации результативно (то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс существующих патофизиологических, биохимических, микробиологических и морфологических методов исследования, методов пептидного химического синтеза, **получены** экспериментальные данные, подтверждающие предположения о двойственном механизме действия бактенецина ChVac3.4,

сочетающем мембранолитическую активность, существенно более высокую, чем у описанных в литературе пролин-богатых антимикробных пептидов, и взаимодействие с внутриклеточными мишенями; **подтверждены** общие закономерности влияния на биологическую активность таких физико-химических факторов, как заряд и гидрофобность; в то же время **идентифицированы** новые структурные детерминанты, влияющие на реализацию антимикробных и цитотоксических эффектов пептида.

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

выявлены новые специфические элементы в структуре пептида, модулирующие преимущественно тот или иной вид активности; **раскрыты** пути оптимизации свойств и повышения селективности, актуальные для создания отечественных инновационных, патентоспособных лекарственных препаратов на основе АМП для использования в клинической практике; **получено** два структурных аналога бактенецина ChVac3.4, с оптимизированными для практического применения свойствами для терапии бактериальных и онкологических патологий (на последний, в частности, подана заявка на патент на изобретение).

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что: для **экспериментальных работ** были использованы современные, адекватные поставленным задачам методы и подходы; результаты были получены на сертифицированном оборудовании и обобщены с применением корректных методов статистической обработки; **идеи и теории**, выдвинутые в работе, обоснованы представленным экспериментальным материалом и базируются на грамотном анализе и аргументированном сравнении с данными, опубликованными в современной отечественной и зарубежной научной литературы по теме диссертационного исследования.

Личный вклад соискателя состоит в самостоятельном выполнении экспериментальных исследований, подборе и анализе литературы, отражающей современное состояние выбранной области исследования,

обработке и интерпретации полученных данных, апробации результатов на всероссийских и международных научных конференциях, активном участии в подготовке публикаций по результатам исследования.

На заседании 30 ноября 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Копейкину П.М. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 25 человек, из них докторов наук по специальности 3.3.3 Патологическая физиология – 13, и 3 доктора наук по специальности 1.5.4. Биохимия, участвовавших в заседании, из 32 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали:

за – 24, против – 1, недействительных бюллетеней – 0.

Заместитель председателя

диссертационного совета, д.б.н.

Пигаревский П.В.

Ученый секретарь диссертационного

совета, д.б.н., доцент

Алещина Г.М.

30 ноября 2021 г.

Подпись

Удостоверяется

Нач. отдела УП и Д



Хабарова О.В.