

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.158.02,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ИНСТИТУТ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 23.12.2021 № 79

О присуждении Орлову Юрию Александровичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Транспортеры CTR1 и DMT1: альтернативные пути импорта меди в клетку и их биологические роли» по специальности 1.5.4 - «Биохимия», принята к защите 12.10.2021 года (протокол № 66) диссертационным советом 24.1.158.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12 (утвержден Приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012).

Соискатель Орлов Юрий Александрович, 1994 года рождения.

В 2015 году соискатель завершил программу бакалавриата на кафедре биофизики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», на этой же кафедре окончил магистратуру в 2017 году.

В 2021 году закончил обучение в аспирантуре на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО» по направлению подготовки 06.06.01 - «Биологические науки», профиль 1.5.4 - «Биохимия»;

работает научным сотрудником в лаборатории экспериментальной зоологии кафедры зоологии Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена»;

диссертация выполнена в международной лаборатории изучения метаболизма микроэлементов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО».

Научный руководитель - доктор биологических наук, профессор Пучкова Людмила Валентиновна, Институт биомедицинских систем и биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», профессор.

Официальные оппоненты:

Шпаков Александр Олегович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» Российской академии наук, заместитель директора, заведующий лабораторией молекулярной эндокринологии и нейрохимии;

Шевцов Максим Алексеевич, кандидат биологических наук, Федеральное бюджетное государственное учреждение науки «Институт цитологии» Российской академии наук, ведущий научный сотрудник дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» (ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России) Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург в своём положительном отзыве, подписанном Галагудзой Михаилом Михайловичем, доктором медицинских наук, член-корреспондентом РАН, главным научным сотрудником НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда, заведующим кафедрой патологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России и утвержденном заместителем Генерального

директора по научной работе ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России доктором медицинских наук, профессором, член-корреспондентом РАН Конради Александрой Олеговной указала, что представленная диссертация - законченная и полная научно-квалификационная работа, в которой изучен индивидуальный функционал транспортеров меди CTR1 и DMT1, а также свойства N-концевого эктодомена CTR1.

Соискатель опубликовал 14 работ по теме диссертации, из них 3 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, получен 1 патент на изобретение Российской Федерации. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Наиболее значимы из них следующие:

1. **Orlov, I.A.** New silver nanoparticles induce apoptosis-like process in *E. coli* and interfere with mammalian copper metabolism / **I.A. Orlov**, T.P. Sankova, P.S. Babich, I.M. Sosnin, E.Y. Ilyechova, D.A. Kirilenko, P.N. Brunkov, G.L. Ataev, A.E. Romanov, L.V. Puchkova // *International Journal of Nanomedicine*. 2016. V. 15, № 11. P. 6561-6574; doi: 10.2147/IJN.S117745 (авторский вклад составил 60%).
2. Sankova T.P. The extracellular domain of human high affinity copper transporter (hNdCTR1), synthesized by *E. coli* cells, chelates silver and copper ions in vivo / T.P. Sankova, **I.A. Orlov**, A.N. Saveliev, D.A. Kirilenko, P.S. Babich, P.N. Brunkov, L.V. Puchkova // *Biomolecules*. 2017. V. 7. № 3. P. 78; doi: 10.3390/biom7040078 (авторский вклад составил 66%).
3. Ilyechova E.Y. CRISP-R/Cas9 Mediated Deletion of Copper Transport Genes CTR1 and DMT1 in NSCLC Cell Line H1299 / E.Y. Ilyechova, E. Bonaldi, **Y.A. Orlov**, E.A. Skomorokhova, L.V. Puchkova, M. Brogginini // *Cells*. 2019. V. 8. № 4. P. 322; 10.3390/cells8040322 (авторский вклад составил 50%)

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Власовой Ольги Леонардовны, доктора физико-математических наук, доцента, директора Высшей школы биомедицинских систем и технологий,

директора Научно-образовательного центра «Фундаментальные основы медицинских и биомедицинских технологий» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого». Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

2. Соловьёва Николая Дмитриевича, кандидата химических наук, ассистента технологического университета в Слайго. Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

3. Седых Сергея Евгеньевича, кандидата биологических наук, научного сотрудника Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук. Отзыв положительный, вопросов и замечаний не содержит.

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

Диссертационный совет отмечает, что на основании исследований, выполненных соискателем:

разработаны новые клеточные модели для исследования роли транспортеров меди *CTR1* и *DMT1* в метаболизме меди у человека, а также способ получения рекомбинантного N-концевого домена белка *CTR1* (*NdCTR1*), связывающего ионы меди и серебра;

предложены новые подходы для изучения метаболизма меди у человека с использованием клеточных линий *H1299*, в которых нокаутированы гены транспортеров меди *CTR1*, *DMT1* или оба гена одновременно;

доказано распределение функций между транспортерами *CTR1* и *DMT1*, дифференциальный отклик клеток на отсутствие каждого из них;

доказана способность N-концевого внеклеточного *CTR1* хелатировать ионы меди и серебра в клетках *E. coli*, а также *in vitro*;

продемонстрировано влияние нокаута генов переносчиков *CTR1* и *DMT1* на экспрессию генов ряда ключевых медь-зависимых белков клетки.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана компартиментализация внутриклеточного распределения ионов меди после их переноса через плазматическую мембрану транспортерами CTR1 и DMT1, а также связывание ионов меди и серебра с NdCTR1 с константами диссоциации образованных комплексов порядка 10 нМ; применительно к проблематике диссертации результативно использованы биохимические, молекулярно-генетические, биофизические и физические экспериментальные методики; изложены аргументы, подчеркивающие значение гидрофобных взаимодействий между N-концевыми доменами CTR1 для формирования функционального тримера транспортера CTR1 в плазматической мембране; раскрыт механизм антибактериального действия наночастиц серебра, основным эффектором которого оказалось ионное серебро, о чем можно судить по способности эндогенного хелатора ионов серебра NdCTR1 повышать устойчивость *E. coli* к использованным наночастицам; изучено на транскрипционном и белковом уровнях влияние нокаута генов *CTR1* и *DMT1* на ключевые медь-зависимые регуляторные белки клетки; проведена модернизация методики выделения полипептида NdCTR1, заключающаяся в его конъюгации с белком-носителем GB1 и последующим выделением рекомбинантного белка металл-аффинной хроматографией.

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

разработаны и внедрены новые экспериментальные модели для изучения роли переносчиков CTR1 и DMT1 в метаболизме меди у человека; созданы штамм-продуцент белка NdCTR1, способного связывать ионы меди, и предпосылки для использования NdCTR1 в качестве медицинского хелатора в терапии ряда заболеваний человека; представлены методологические рекомендации по выделению NdCTR1; определена повышенная устойчивость линии клеток H1299 с нокаутом генов транспортеров меди к соединениям, широко используемым при терапии злокачественных новообразований. Эта информация может быть использована медицинскими работниками при разработке

персонализированных схем лечения, основанных на информации об индивидуальной экспрессии *CTR1* и *DMT1*.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

экспериментальные результаты получены на современном сертифицированном оборудовании в необходимом объеме, воспроизводимы и обработаны с применением корректных статистических методов в соответствии с задачами исследования;

теория и идея работы основаны на предпосылках, сформулированных после всестороннего анализа ранее накопленных экспериментальных данных, опыта и заключений, описанных в научной литературе по изучаемой тематике;

использованы оптимальные, отвечающие поставленным целям и задачам, экспериментальные методы биохимии, биофизики и молекулярной генетики;

установленная способность NdCTR1 связывать ионы меди и серебра как в *E. coli*, так и *in vitro*, логически вытекает из предыдущих экспериментальных работ и существующих представлений о белке CTR1; полученные результаты согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по рассматриваемой теме.

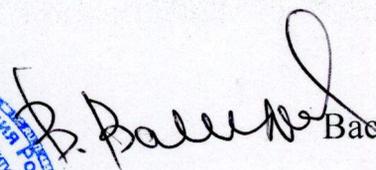
Соискатель принимал непосредственное участие во всех этапах работы: формулировании цели и задач исследования, определении его методологии, планировании экспериментальной работы и проведении опытов, анализе собранных данных, их интерпретации и формулировании выводов, представлении результатов на международных конференциях и написании научных статей, описывающих проведенную работу.

На заседании 23.12.2021 диссертационный совет принял решение: за разработку новых моделей для изучения метаболизма меди у человека и роли переносчиков CTR1 и DMT1 в клеточном импорте меди, определение хелатирующих свойств N-концевого внеклеточного домена CTR1 и формирование предпосылок для возможного использования полипептида NdCTR1 в медицинской практике присудить Орлову Ю.А. ученую степень кандидата биологических наук.

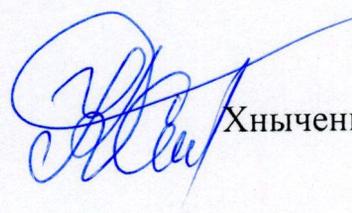
При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 27 человек, из них 13 докторов наук по специальности 1.5.4 - «Биохимия» (7 докторов биологических наук и 6 докторов медицинских наук), участвовавших в заседании, из 35 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 27, «против» - 0, «недействительных бюллетеней» - 0.

Председатель диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор



 Васильев В.Б.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор биологических наук

 Хныченко Л.К.

23.12.2021