Отзыв научного консультанта

на диссертационную работу к.б.н. Аливердиевой Динары Алиевны «Транспортеры дикарбоксилатов и модельные пороформеры в биологических мембранах» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Аливердиева Динара Алиевна окончила с отличием Дагестанский государственный университет с присуждением квалификации «биология, химия» в 1981 г. С 1981 по 1984 г. обучалась в очной аспирантуре Института биохимии им. А.Н. Баха РАН. В 1985 г. Аливердиева Д.А. защитила кандидатскую диссертацию «Действие мастопарана и аламетицина на митохондрии печени крыс» в ИНБИ РАН по специальности 03.01.04. Биохимия (диплом БЛ № 016040), выполненную в лаборатории биологического окисления (лаборатории биоэнергетики) в группе к.б.н. К.Ф. Шольца под руководством д.б.н., профессора А.А. Котельниковой. С 1987 г. работала в лаборатории биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра (ПИБР ДФИЦ) РАН в должности м.н.с., н.с., с.н.с., с 2010 г. по настоящее время – ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией. С 2006 по 2019 г. являлась заместителем директора ПИБР ДФИЦ РАН по научной работе.

Выполненная Аливердиевой Д.А. диссертационная работа посвящена изучению особенностей порообразования индукторами ионной проницаемости – аламетицином, мелиттином и мастопараном с использованием митохондрий печени крыс, а также свойств, кинетических параметров и активного центра нативных дикарбоксилатных транспортеров митохондрий печени крыс и плазмалеммы *S. cerevisiae* с различными механизмами функционирования.

В процессе выполнения работы Аливердиевой Д.А. был разработан методологический подход для определения кинетических параметров переносчиков и измерения трансмембранного катионного транспорта (тока) на препаратах митохондрий. Изучение параметров транспортеров в интактных системах является достаточно сложной задачей. Аливердиева Д.А. использовала в работе новый оригинальный подход –ферментативные системы окисления субстратов в препаратах митохондрий и клеток были использованы в качестве эндогенных сопряженных систем для изучения трансмембранного транспорта моно-, ди- и трикарбоновых кислот. С применением разработанного подхода впервые было показано существование О-пальмитоил-L-малат чувствительного транспортера плазмалеммы *S. cerevisiae*. Новый переносчик дрожжей обладал уникальными для транспортеров плазмалеммы дрожжей свойствами: широкой субстратной специфичностью (сукцинат, цитрат, фумарат, итаконат, малонат, L- и D-малат), pH оптимумом в щелочной области, pH-зависимым модулированием транспорта однозарядными катионами. Предполагаемый механизм транспорта – неэлектрогенный унипорт. Предложенный подход применим для изучения и поиска малоактивных переносчиков окисляемых субстратов дрожжей.

Впервые для изучения активного центра нативного дикарбоксилатного транспортера плазмалеммы *S. cerevisiae* был применен метод зондирования с использованием двух рядов непроникающих конкурентных ингибиторов (2-алкилмалонатов и О-ацил-L-малатов). Выявлена протяженная липофильная область вблизи точки связывания двухзарядной головки ингибитора. Для внешнего полуканала дикарбоксилатного антипортера митохондрий печени крыс выявлена липофильная зона, разделенная гидрофильной площадкой. С использованием бифункциональных α,ω–алкилендималонатов показано, что малат и малонат в митохондриальном переносчике имеют единую точку связывания. Показано, что канал транспортеров, переносящих гидрофильный субстрат (дикарбоксилат), имеет гидрофобную поверхность. В отсутствие

ренгеноструктурных данных о третичной структуре дикарбоксилатных переносчиков такой подход является в настоящее время единственным источником детальной информации о структуре их активных центров. Появление в перспективе рентгеноструктурных данных позволит сопоставить информацию о третичной структуре транспортеров в биомембране и в кристалле, что представляет отдельный интерес.

Показана возможность использования суспензии высокосопряженных митохондрий в оксиметрической ячейке в качестве бесконтактного биосенсора трансмембранного катионного тока, индуцированного пептидами - пороформерами. Впервые показано, что с помощью такого подхода можно измерить стационарную калиевую проводимость, индуцированную в митохондриях низкоолигомерной формой аламетицина на фоне проводимости его высокоолигомерных форм в присутствии $\Delta\psi$ при низких пептид/липидных соотношениях и оценить диаметр поры. Обнаружены два механизма самоассоциации пороформеров в биомембране: с замедлением образования непроводящей димерной предпоры и с замедлением образования транспортирующего канала, показано влияние пептидов-пороформеров на величину $\Delta\psi$ митохондрий. Нет сомнения, что полученные результаты расширяют представление о механизмах действия пороформирующих пептидов на митохондрии, а также возможного токсического действия разработанных на их основе препаратов медицинского назначения. Предложеннный подход (использование митохондрий в качестве биосенсора калиевого трансмембранного тока) на примере 4-х пептидов-пороформеров, можно в перспективе применить для изучения побочных эффектов 10-ти широко используемых в современной медицине пороформеров-антибиотиков и двух десятков пороформеров, которые находятся на второй стадии клинических испытаний. Кроме того, самособирающиеся в пору полипетиды, подобные исследованным в данной работе, и нативные мембранные белки-транспортеры могут иметь общие

черты, что важно для понимания механизма их сборки, встраивания в мембрану, функционирования и регуляции.

До проведенных в данной работе исследований представления о транспорте ДКБ через плазмалемму *S. cerevisiae* были противоречивыми, а его механизм не изучен. Вопрос о существовании возможного транспортера ДКБ в плазмалемме *S. cerevisiae* оставался нерешенным из-за отсутствия метода измерения низких активностей окисления сукцината и L-малата на фоне активного эндогенного дыхания.

На основании вышеизложенного, можно заключить, что для изучения структуры и свойств дикарбоксилатных транспортеров и механизмов порообразования модельных пороформеров актуальна разработка новых методических подходов. А описанные в данной работе преимущества интактных митохондрий и клеток делают перспективным предлагаемое направление – использование ЭСС в количественном изучении трансмембранного транспорта.

За время работы проявила себя как очень работоспособный, целеустремленный, эффективный ученый, активно участвующий как в научной, так и в научно-организационной работе. Аливердиева Д.А. хорошо знает российскую и зарубежную литературу по тематике проводимых исследований, неоднократно выступала с устными докладами на российских и международных конференциях, принимала активное участие в написании проектов и отчетов по грантам РФФИ, по программам фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН и Президиума РАН в качестве руководителя и ответственного исполнителя. В качестве заместителя директора по научной работе и заведующей лаборатории биохимии и биотехнологии ПИБР ДФИЦ РАН Аливердиева Д.А. организовала приобретение, установку и наладку современного научного оборудования для проведения экспериментальных работ в рамках плановых научных исследований, согласованных с ОБН РАН и утвержденных Минобрнауки РФ.

Можно заключить, что диссертационная работа Аливердиевой Д.А. посвящена интересной и актуальной проблеме, содержит новые оригинальные экспериментальные данные. Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, были опубликованы в виде статей в ведущих научных журналах в области биохимии, химии, микробиологии, индексируемых в Web of science (21статья), опубликованы в обзорных статьях, включены в книги зарубежных издательств, а также представлены на многих российских и зарубежных конференциях.

Как научный консультант считаю, что диссертационная работа Аливердиевой Д.А. является завершенным научным исследованием, а автор заслуживает присуждения ей ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв дан для представления в Диссертационный совет 24.1.233.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Научный консультант
главный научный сотрудник
лаборатории биоэнергетики
Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук,
профессор, доктор биологических наук
по специальности 03.01.04 Биохимия

Звягильская Р.А.
05 2022 г.

Звягильская Рената Александровна
тел.: +7 495 954 40 88
e-mail.: renata_z@inbi.ras.ru