

## Отзыв научного консультанта

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

Аливердиева Динара Алиевна окончила с отличием Дагестанский государственный университет в 1981 г с присуждением квалификации «биология, химия». С 1981 по 1984 г. обучалась в очной аспирантуре Института биохимии им. А.Н. Баха РАН, в лаборатории биологического окисления под руководством к.б.н. К.Ф. Шольца. В 1985 г. защитила кандидатскую диссертацию «Действие мастопарана и аламетицина на митохондрии печени крыс» в ИНБИ РАН по специальности 03.01.04. Биохимия (диплом БЛ № 016040). 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 биохимии и биотехнологии. С 2006 по 2019 г. являлась заместителем директора ПИБР ДФИЦ РАН по научной работе. Все эти годы она продолжала исследования пороформеров, приезжая в лабораторию биологического окисления ИНБИ РАН, продолжала и после смерти своего Учителя К.Ф. Шольца.

Диссертационная работа Д.А. Аливердиевой, представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, посвящена изучению особенностей порообразования индукторами ионной проницаемости – аламетицином, мелиттином и мастопараном, используя в качестве модели прочносопряженные митохондрии печени крыс Другим важным направлением работы было изучение свойств, кинетических параметров и структуры активного центра дикарбоксилатных транспортеров

митохондрий печени крыс и плазмалеммы *S. cerevisiae* с различными механизмами функционирования.

Д.А. Аливердиевой был разработан оригинальный методологический подход для определения кинетических параметров переносчиков в митохондриях печени крысы и измерения трансмембранного катионного транспорта тока. Следует отметить, что характеристика параметров транспортеров в интактных системах является сложной и нетривиальной задачей. Использование ферментативных систем окисления субстратов в препаратах митохондрий и клетках в качестве эндогенных сопряженных систем позволило изучить особенности трансмембранного транспорта моно-, ди- и трикарбоновых кислот. Применяя этот подход и оригинальную предобработку клеток, впервые удалось показать существование О-пальмитоил-L-малат чувствительного транспортера дикарбоксилатов в плазмалемме дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. До этих исследований представления о транспорте дикарбоксилатов через плазмалемму *S. cerevisiae* были противоречивыми, его механизм не изучен, да сам вопрос о существовании возможного транспортера оставался открытым. Удалось не только доказать существование переносчика, но и выявить его уникальные для транспортеров плазмалеммы дрожжей свойства: широкую субстратную специфичность (сукцинат, цитрат, фумарат, итаконат, малонат, L- и D-малат), рН оптимумом в щелочной области, рН-зависимое модулирование транспорта однозарядными катионами и предполагаемый механизм транспорта – неэлектрогенный унипорт.

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. Предложенный подход может быть применим для поиска и изучения других малоактивных переносчиков окисляемых субстратов дрожжей.

Метод зондирования с помощью конкурентных ингибиторов позволил выявить во внешнем полуканале дикарбоксилатного антипортера митохондрий печени крыс липофильную зону, разделенную гидрофильной площадкой. Используя бифункциональные  $\alpha,\omega$ -алкилендималонаты, удалось доказать, что малат и малонат в митохондриальном переносчике имеют единую точку связывания. Показано, что канал транспортеров, переносящих гидрофильный субстрат (дикарбоксилат), имеет гидрофобную поверхность. В отсутствие рентгеноструктурных данных о третичной структуре дикарбоксилатных переносчиков такой подход является в настоящее время единственным источником детальной информации о структуре их активных центров.

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 выявления их возможного токсического действия. Более того, митохондрии как биосенсор калиевого трансмембранного тока могут быть и относительно простой тест-системой для выявления возможного побочного действия десяти уже широко используемых в современной медицине пороформеров-антибиотиков и двух десятков пороформеров, которые находятся на второй стадии клинических

испытаний. Наконец, самособирающиеся в пору полипептиды, подобные исследованным в данной работе, и нативные мембранные белки-транспортеры могут иметь общие черты, что будет важно для понимания механизма их сборки, встраивания в мембрану, функционирования и регуляции.

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 дрожжей делают перспективным предлагаемое направление – использование эндогенных сопряженных систем для характеристики трансмембранного транспорта.

За время работы Д.А. Аливердиева проявила себя как очень работоспособный, инициативный, целеустремленный, ответственный и эффективный ученый. Она хорошо знает российскую и зарубежную литературу по тематике проводимых исследований. Написанный ею обзор литературы производит очень сильное впечатление и может быть использован как ценное учебное пособие всеми, работающими в области транспорта субстратов. Д.А. Аливердиева 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.

Можно заключить, что диссертационная работа Аливердиевой Д.А. посвящена интересной и актуальной проблеме, содержит новые оригинальные методические подходы и важные 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 (22

статьи), 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. законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует критериям, изложенным в п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утверждённом Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842, и профилю диссертационного совета 24.1.233.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Работа отвечает всем требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, и может быть представлена к защите на соискание учёной 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 1.5.4. Биохимия



Звягинская Р.А.  
ПРИЕМАЕТСЯ  
в канцелярии  
2023г.

Звягинская Рената Александровна

тел.: +7 495 954 40 88

e-mail: renata\_z@inbi.ras.ru

28 ноября 2023