

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.191.01 (Д 005.008.01),
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ
ЦЕНТР МОРСКОЙ БИОЛОГИИ им. А.В. ЖИРМУНСКОГО»
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 29 ноября 2022 г. № 9

О присуждении Гринченко Андрею Викторовичу, гражданину России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Агглютинирующая активность и новый белок-агглютинин MkC1qDC гемолимфы двустворчатого моллюска *Modiolus kurilensis*: идентификация, тканевая локализация и свойства» по специальностям 1.5.22. Клеточная биология и 1.5.4. Биохимия принята к защите 26 сентября 2022 г. (протокол заседания № 7) диссертационным советом 24.1.191.01 (Д 005.008.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17, приказ Минобрнауки России 105/нк от 11.04.2012 г.; шифр диссертационного совета изменен на 24.1.191.01 приказом Минобрнауки РФ № 561/нк от 03 июня 2021 г.

Соискатель Гринченко Андрей Викторович, «26» октября 1988 г. рождения. В 2010 г. соискатель окончил Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дальневосточный государственный университет» по специальности «Биология». В 2013 году соискатель окончил очную аспирантуру при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», работает в должности

младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Диссертация выполнена на базе лаборатории биомедицинских клеточных технологий Департамента медицинской биологии и биотехнологии Института наук о жизни и биомедицины и кафедры клеточной биологии и генетики Института Мирового океана Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Кумейко Вадим Владимирович, директор Департамента медицинской биологии и биотехнологии Института наук о жизни и биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет».

Официальные оппоненты:

Боголюбов Дмитрий Сергеевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, главный научный сотрудник (с возложением обязанностей заведующего лабораторией морфологии клетки)

Черников Олег Викторович, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, заместитель директора по научной работе

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, в своем положительном заключении, подписанном Андреевой Александрой Юрьевной, кандидатом биологических наук, ведущим научным сотрудником и руководителем лаборатории экологической иммунологии гидробионтов,

указала, что по актуальности, научной новизне, методическому уровню, количеству публикаций, теоретической и практической значимости диссертационная работа соответствует основным квалификационным критериям (пункты 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., в редакции от 11 сентября 2021 г.), а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.22. Клеточная биология и 1.5.4. Биохимия.

Соискатель имеет 21 опубликованную работу, в том числе **11 по теме диссертации**, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **4** работы, и **1** патент. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Работы посвящены исследованиям структуры, функций и клеточных источников нового белка-агглютинаина MkC1qDC, а также изучению других защитных факторов гемолимфы *M. kurilensis*. В 3 из 4 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, Гринченко А.В. является первым автором, что свидетельствует о большом личном вкладе соискателя. В статьях и в материалах международных и всероссийских научных конференций опубликованы основные результаты исследований.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Grinchenko A.V.**, Von Kriegsheim A., Shved N.A., Egorova A.E., Ilyaskina D.V., Karp T.D., Goncharov N.V., Petrova I.Yu. Kumeiko V.V. A novel C1q domain-containing protein isolated from the mollusk *Modiolus kurilensis* recognizing glycans enriched with acidic galactans and mannans // *Marine Drugs*. 2021. Vol. 19, № 12. Article No. 668. doi: 10.3390/md19120668.

2. **Grinchenko A.V.**, Sokolnikova Y.N., Ilyaskina D.V., Kumeiko V.V. Seasonal changes in hemolymph parameters of the bivalve *Modiolus kurilensis* Bernard, 1983 from Vostok Bay, Sea of Japan // *Russian Journal of Marine Biology*. 2021. Vol. 47, № 4. P. 300–311.

3. Kumeiko V.V., Sokolnikova Y.N., **Grinchenko A.V.**, Mokrina M.S., Kniazkina M.I. Immune state correlates with histopathological level and reveals

molluscan health in populations of *Modiolus kurilensis* by integral health index (IHI) // Journal of Invertebrate Pathology. 2018. Vol. 154. P. 42–57.

4. **Grinchenko A.V.**, Sokolnikova Y.N., Korneiko D.K., Kumeiko V.V. Dynamics of the immune response of the horse mussel *Modiolus kurilensis* (Bernard, 1983) following challenge with heat-inactivated bacteria // Journal of Shellfish Research. 2015. Vol. 34, № 3. P. 909–917.

5. Кумейко В.В., **Гринченко А.В.**, Сокольникова Ю.Н. Способ оценки здоровья морских двустворчатых моллюсков и состояния среды их обитания: Патент № RU2571817C1. 2015.

На диссертацию и автореферат поступило 3 положительных отзыва. Отзывы без замечаний подписали: зав. лабораторией клеточной иммунологии отдела иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» к.б.н. И.В. Кудрявцев; зав. лабораторией иммунологии ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина» РАН к.б.н. Д.В. Микряков и научный сотрудник лаборатории иммунологии А.С. Соколова; доцент кафедры зоологии и генетики ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена» к.б.н. А.С. Токмакова.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами, имеющими значительное количество публикаций в области клеточной биологии и биохимии белков, а ведущая организация – научным учреждением, одним из основных направлений научных исследований которого является изучение фундаментальных и прикладных проблем биохимии и физиологии морских организмов, а также разработка биотехнологий и методов биомониторинга морской среды. Квалифицированность ведущей организации подтверждается большим числом публикаций по тематике диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований идентифицирован и выделен из гемолимфы

двустворчатого моллюска *Modiolus kurilensis* новый лектин-подобный белок семейства C1qDC – MkC1qDC. Охарактеризованы физико-химические свойства MkC1qDC и установлено, что он обладает специфичностью к широкому спектру углеводных лигандов, но самой высокой – к гликанам, обогащенным производными галактозы и маннозы. Определена аминокислотная последовательность MkC1qDC и выявлена гомология с последовательностями C1q-домен-содержащих белков других видов двустворчатых моллюсков. Получены поликлональные антитела к MkC1qDC, с помощью которых установлена его локализация в гранулярных гемоцитах, стенках гемальных синусов и в соединительной ткани различных органов *M. kurilensis*. Показана способность MkC1qDC агглютинировать грамположительные и грамотрицательные бактерии и подавлять их рост, а также вызывать некроз культивируемых злокачественных клеток аденокарциномы и глиобластомы человека. Выявлена зависимость белкового состава гемолимфы *M. kurilensis* и её агглютинирующей и литической активности от сезонных изменений факторов среды, а также от воздействия бактерий и антропогенного загрязнения на организм моллюсков. Показана взаимосвязь этих показателей состояния гемолимфы моллюсков с гистопатологическими изменениями в их органах и тканях.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что результаты работы вносят существенный вклад в понимание молекулярных (гуморальных) и клеточных механизмов защитных реакций двустворчатых моллюсков при действии различных повреждающих факторов и способствуют развитию сравнительно-эволюционных исследований структуры и свойств белков-агглютининов плазмы крови и их роли в реализации иммунного ответа у животных разного уровня организации. Способность лектин-подобного белка MkC1qDC оказывать цитотоксическое действие на опухолевые клетки человека создаёт теоретические предпосылки для поиска новых углеводов-распознающих белков морских беспозвоночных с противоопухолевой активностью.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что разработан метод эффективного выделения из гемолимфы двустворчатого моллюска нового углевод-распознающего белка, обладающего антибактериальной и противоопухолевой активностью. Это открывает перспективы для биомедицинских исследований с целью разработки методов онкодиагностики и способов таргетной доставки противоопухолевых препаратов. Показатели состояния гемолимфы двустворчатых моллюсков могут служить основой для разработки тест-систем оценки физиологического состояния двустворчатых моллюсков в природных популяциях и в условиях марикультуры.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что в работе использован ряд соответствующих поставленным задачам классических и современных методов клеточной биологии (световая, флуоресцентная, конфокальная лазерная и автоматизированная количественная микроскопия, иммуноцитохимия, культивирование клеток), методов биохимии и молекулярного анализа (электрофорез белков в полиакриламидном геле, установление аминокислотной последовательности белка секвенированием по методу Эдмана, масс-спектрометрия, Вестерн-блоттинг), а также методов определения агглютинирующей и литической активности белков гемолимфы двустворчатого моллюска в отношении бактерий и эритроцитов человека. Многократное повторение процедур, предварительные эксперименты и значительный объем исследованных выборок в совокупности с детальным статистическим анализом обеспечили достоверность результатов и сделанных на их основе выводов.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в реализации всех этапов диссертационной работы (разработка концепции и методологии исследования, постановка экспериментов, статистический анализ и интерпретация полученных результатов, подготовка статей к публикации, представлении результатов исследования на конференциях).

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания относительно недостаточно полной информации в обзоре литературы о белках, содержащих Clq-домен, и об изменениях в структуре углеводов на поверхности клеток, недостатка некоторой методологической информации, а также замечания редакционного характера. Принципиальных замечаний по существу работы высказано не было.

Соискатель Гринченко А.В. ответил на все вопросы, привел собственную аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласился с критическими замечаниями.

На заседании 29 ноября 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Гринченко А.В. ученую степень кандидата биологических наук за вклад в решение задач, имеющих значение для развития клеточной биологии и биохимии: выделение, очистку и установление строения продуцируемых клетками крови белков и изучение их роли в реализации защитных реакций многоклеточных организмов.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 3 доктора наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология и 3 доктора наук по специальности 1.5.4. Биохимия, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за 17, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель диссертационного совета
чл.-корр. РАН

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук

Юшин
Владимир
Владимирович
Ващенко
Марина
Александровна

29 ноября 2022 г.