

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 12 октября 2016 г. № 11

О присуждении **Кудрявцеву Денису Сергеевичу**, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Новые низкомолекулярные и пептидно-белковые лиганды Суз-петельных рецепторов» по специальности 03.01.03 - молекулярная биология принята к защите 08 июня 2016 г., протокол № 7 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) (117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Кудрявцев Денис Сергеевич 1988 года рождения. В 2011 году соискатель окончил Московский государственный университет им. Ломоносова по специальности «биохимия», в 2011 г. поступил в аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, которую закончил в 2014 г. Работает научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории лиганд-рецепторных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель - Кашеверов Игорь Евгеньевич, доктор химических

наук, заведующий лабораторией лиганд-рецепторных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Кочетков Сергей Николаевич, член-корр. РАН, доктор химических наук, заведующий лабораторией молекулярных основ действия физиологически активных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук

Казначеева Елена Валентиновна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией ионных каналов клеточных мембран Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук в своем положительном заключении, подписанном заведующим Отделом химии физиологически активных веществ, академиком РАН, д.х.н. Мясоедовым Николаем Фёдоровичем и утвержденном директором Института чл.-корр. РАН С.В. Костровым, указала, что диссертационная работа Кудрявцева Дениса Сергеевича «Новые низкомолекулярные и пептидно-белковые лиганды Суспетельных рецепторов» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842 с изменениями постановления Правительства РФ от 24.04.16 №335) для ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - «Молекулярная биология».

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, по теме диссертации 10 работ,

в том числе 6 работ объемом 3,5 печ.л. в научных журналах, входящих в международную базу цитирования Web of Science. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной вклад:

1. Kudryavtsev, Denis S., Irina V Shelukhina, Lina V Son, Lucy O Ojomoko, Elena V Kryukova, Ekaterina N Lyukmanova, Maxim N Zhmak, Dmitry A Dolgikh, Igor A Ivanov, Igor E Kasheverov, Vladislav G Starkov, Joachim Ramerstorfer, Werner Sieghart, Victor I Tsetlin, Yuri N Utkin. "Neurotoxins from Snake Venoms and α -Conotoxin ImI Inhibit Functionally Active Ionotropic γ -Aminobutyric Acid (GABA) Receptors." *Journal of Biological Chemistry* (2015). 290(37): 22747-22758.

2. Kudryavtsev, Denis, Tatyana Makarieva, Natalia Utkina, Elena Santalova, Elena Kryukova, Christoph Methfessel, Victor Tsetlin, Valentin Stonik, Igor Kasheverov. "Marine natural products acting on the acetylcholine-binding protein and nicotinic receptors: From computer modeling to binding studies and electrophysiology." *Marine drugs* (2014). 12(4): 1859-1875.

3. Kudryavtsev, Denis, Irina Shelukhina, Catherine Vulfius, Tatyana Makarieva, Valentin Stonik, Maxim Zhmak, Igor Ivanov, Igor Kasheverov, Yuri Utkin, Victor Tsetlin. "Natural compounds interacting with nicotinic acetylcholine receptors: from low-molecular weight ones to peptides and proteins." *Toxins* (2015). 7(5): 1683-1701.

На диссертацию поступили отзывы:

1. Официального оппонента чл.-корр. РАН Кочеткова С.Н., отзыв положительный. В качестве недостатка диссертации указано, что вывод 1 является общим, дублируется остальными выводами и не несет смысловой нагрузки, а также, что вывод 6 также неконкретен и мог бы быть сформулирован по-иному.

2. Официального оппонента д.х.н. Казначеевой Е.В., отзыв положительный. В отзыве высказан ряд замечаний: а) излишняя краткость обзора литературы; б) недостаточно подробное описание материалов и методов; в) отдельные вопросы к разделу «Результаты и обсуждение». Каким образом контролировался субъединичный состав рецепторов? Зачем использовался химерный рецептор альфа7-го типа? Каким образом выбирали трансфицированные клетки для электрофизиологических измерений? г) вывод №1 не несет никакой конкретной информации; д) четвертый вывод звучит не вполне корректно.

3. Ведущей организации, отзыв положительный. Высказаны следующие замечания: а). Краткость изложения раздела «Материалы и методы» может вызвать известные неудобства у исследователей, которые захотят использовать

предложенные в работе методики; б). Список сокращений не содержит расшифровки названия лиганда Lynx1; в). В работе не дается объяснения значений терминов «длинный», «слабый» и «короткий» нейротоксин; г). Для обоснования связывания альфа-кобратоксина в ортостерическом участке рецептора ГАМК в работе приведены данные мутагенеза. Однако, из других экспериментальных данных следует, что этот нейротоксин способен связываться в аллостерическом участке. Остается неясным, пытался ли Д.С. Кудрявцев уточнить расположение этого аллостерического участка.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой квалификацией в области молекулярной биологии и электрофизиологии, что подтверждается наличием у них значительного количества публикаций по соответствующей тематике в международных научных изданиях. Наличие солидного опыта и высокой квалификации в приведенных выше областях позволяет им объективно судить о научной новизне, а также теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований предложен и оптимизирован способ электрофизиологического тестирования микроколичеств природных и синтетических лигандов Cys-петельных рецепторов. В ходе работы впервые обнаружены свойства лигандов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов у низкомолекулярных соединений, выделенных из морских асцидий и губок коллективом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанского института биорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТиБоХ ДО РАН). Автором изучены новые свойства водорастворимого аналога эндогенного модулятора никотиновых ацетилхолиновых рецепторов wsLynx1, впервые показано полное ингибирование функционально-активных рецепторов ГАМК-А трехпетельными токсинами из ядов змей и альфа-коботоксином ImI. В диссертационной работе применено сочетание теоретических методов, радиолигандного, флуоресцентного анализа и электрофизиологии.

Конструирование новых лигандов Cys-петельных рецепторов показано на примере пятичленного фрагмента линейного токсина из яда бирманской гадюки аземиопсина, а также на примере синтетического фрагмента центральной петли альфа-кобратоксина.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые показано прямое связывание и влияние на функционирование ГАМКА альфа-кобратоксина, что заставляет переосмыслить результаты ранее проведенных в России и за рубежом поведенческих, физиологических и биохимических исследований с применением альфа-кобратоксина и его аналогов (например, данные об антиболевой активности данного токсина).

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что запатентованы и внедрены пятичленные фрагменты аземиопсина, исследовавшиеся в работе. Сам аземиопсин находится на стадии доклинических испытаний как препарат для лечения мышечных дистоний, поэтому данные о наиболее важных для ингибирования мышечного nAChR аминокислотных остатках, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, являются крайне важными для дальнейшего изучения активности препарата аземиопсина *in vivo*.

Оценка достоверности результатов основывается на том, что они получены с использованием сертифицированного оборудования и материалов; доказана воспроизводимость результатов исследования; идеи и концепции, изложенные в диссертации, базируются на современных представлениях химической и биологической науки; использованы современные методики сбора и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выборе основных направлений и методов исследования, получении и анализе экспериментальных данных. Весь экспериментальный материал, представленный в диссертации, получен лично автором, за исключением данных флуоресцентной микроскопии, частично полученных в сотрудничестве с И.В. Шелухиной (лаборатория молекулярной токсикологии ИБХ РАН). Автор лично участвовал в

апробации результатов работы на конференциях. Подготовка основных публикаций по выполненной работе проводилась лично соискателем или при его непосредственном участии.

На заседании 12 октября 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Кудрявцеву Д.С. ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 6 докторов наук (по специальности рассматриваемой диссертации 03.01.03 - молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, человек, проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 2.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

В.Т. Иванов

Ученый секретарь
д.ф.-м.н.



В.А. Олейников