



Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук
(ИБХ РАН)

СТЕНОГРАММА

**заседания диссертационного совета Д 002.019.01
при ИБХ РАН**

12 октября 2016 года

Защита диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук **Ямпольского Ильи Викторовича** на тему:

«Строение и механизмы функционирования новых субстратов биолюминесценции (люциферин) и хромофоров флуоресцентных белков»

по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия

Москва – 2016

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.019.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 12 октября 2016 года.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

В.Т. Иванов

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор физико-математических наук

В.А. Олейников

На заседании Совета из 30 членов совета присутствует 23 человека, из них докторов профиллю диссертации – 8.

1. Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2. Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
3. Д.х.н.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
4. Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
5. Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06)
6. Академик РАН	Богданов Алексей Алексеевич	(03.01.03)
7. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
8. Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
9. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
10. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
11. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
12. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
13. Академик РАН	Лукьянов Сергей Анатольевич	(03.01.03)
14. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
15. Д.х.н.	Молотковский Юлиан Георгиевич	(02.00.10)
16. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
17. Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
18. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
19. Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
20. Д.х.н.	Формановский Андрей Альфредович	(02.00.10)
21. Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
22. Д.х.н.	Шапаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
23. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)

Председатель диссертационного совета, академик РАН Иванов В.Т.:

Защита Ямпольским Ильей Викторовичем диссертации на тему «Строение и механизмы функционирования новых субстратов биолюминесценции (люциферин) и хромофоров флуоресцентных белков» на соискание степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 - Биоорганическая химия. Научные консультанты - академик РАН Лукьянов Сергей Анатольевич и академик РАН Гительзон Иосиф Исаевич. Разрешите предоставить слово учёному секретарю, Владимир Александрович доложит нам материалы личного дела.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников В.А. (Зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечается, что материалы личного дела и документы предварительной экспертизы соответствуют требованиям Положения ВАК).

Председатель диссертационного совета: Есть вопросы к учёному секретарю? Тогда разрешите предоставить слово соискателю. Пожалуйста, Вам сорок минут для доклада.

Ямпольский И.В. (Излагает основные положения диссертационной работы)

Председатель диссертационного совета: Переходим к обсуждению. Вопросы? Прошу, Бовин.

Бовин Николай Владимирович: Получается, что в реакциях хемолюминесценции, которая наблюдается в природе, очень часто происходит элиминирование углекислого газа.

Илья Ямпольский, диссертант: Верно.

Бовин Николай Владимирович: Вот, наверное, вы над этим задумывались, а в чем, так сказать, химический философский смысл именно реакции с выделением углекислого газа, что здесь такого есть особенного, что природа взяла на вооружение?

Илья Ямпольский, диссертант: Спасибо за вопрос. На самом деле философский смысл, я люблю об этом говорить, когда популярные лекции

читаю, состоит в том, что на самом деле квант света – это довольно много энергии. Часто, когда видят, что схема люминесценции светлячков включает АТФ, и биологи часто говорят – АТФ – это же донор энергии, носитель энергии, поэтому, наверное, именно расщепление АТФ приводит к излучению кванта света. На самом деле в такой энергетической валюте, если такую аналогию провести, то самая дорогая купюра – это молекула кислорода. Собственно говоря, если так задуматься, в биологии энергия, ну вообще на Земле энергия солнца запасается в виде молекул кислорода с помощью фотосинтеза, не органических соединений, а кислорода. Потому что именно молекулы кислорода очень электронодефицитные, и это и есть то неустойчивое богатое энергией производное, которое запасает большие количества энергии. Восстановление молекулы кислорода происходит с помощью 4 электронов. И кислород – самый электроотрицательный элемент после фтора. Вот эта вот ситуация и позволяет запасать в одной молекуле кислорода очень много энергии.

Мы ее с вами обратно извлекаем, когда топим печку и так далее. И вот, квант света, если опять же возвращаться к аналогии с валютой, там молекула кислорода где-то доллар, квант света – это 50 центов, ну и АТФ – это 1 цент. Вот, то есть смысл философский не в том, что CO₂ выделяется, а в том, что восстанавливается кислород. И действительно, это во всех случаях люминесценции происходит. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Еще вопросы? Прошу, Василевский.

Василевский Александр Александрович: Среди прочего очень понравилось, как вы элегантно фиксировали кажется конфигурацию двойной связи в циклическом аналоге хромофора GFP для того чтобы там показать, что вот он флюоресцирует именно потому, что фиксирована конфигурация. Скажите, а вот в структуре самого белка эта фиксация она хорошо прослеживается, то есть видны аналогии с тем производным?

Илья Ямпольский, диссертант: Спасибо большое. Да, конечно, как раз GFP представляет собой «бета баррель», так называемый, внутри которого в самой серединке и находится хромофор. И, с одной стороны, он зафиксирован тем, что он входит в состав альфа-спиралей, то есть по двум положениям он зафиксирован ковалентно, а по остальным положениям он зафиксирован окружением. Вот, и, например, если зеленый флуоресцентный белок денатурирует, то он перестает флюоресцировать. Да, нативный белок обладает флюоресценцией, а денатурированный не обладает. Это подтверждает тоже вот эту интерпретацию структурную, что флюоресцируют только жестко зафиксированные конформации этого хромофора. Я правильно уловил суть вопроса?

Василевский Александр Александрович: Хотелось чуть поподробнее как происходит, фиксация.

Илья Ямпольский, диссертант: Ну, за счет ковалентных, за счет двух ковалентных взаимодействий в хромофоре. Вот эти два положения хромофорного ядра в белке. У меня есть дополнительный слайд. Да, вот хромофор GFP, допустим. Вот здесь в нем продолжается полипептидная цепь, и здесь продолжается. То есть две точки ковалентно зафиксированы, а фотоизомеризация двойной связи зафиксирована аминокислотным окружением с помощью нековалентных взаимодействий, в частности, водородных связей, ван-дер-ваальсовых взаимодействий. И просто жесткости бета бочонка.

Председатель диссертационного совета: У меня возник вопрос, вы сказали, что несветящиеся грибы содержат гораздо больше предшественников люциферина, чем светящиеся, вроде бы нелогично, чем больше предшественников, тем больше свечения, наверное, будет, или наоборот логично, с чем вы, как можно увязать все это?

Илья Ямпольский, диссертант: Спасибо за вопрос. Но для люминесценции грибов, сейчас я покажу слайд, кроме наличия предшественника люциферина

необходимы еще два фермента, один из которых превращает предшественник в люциферин, а второй является люциферазой. Вот у несветящихся грибов, мы это показывали в наших статьях, вот эти два фермента отсутствуют.

Председатель диссертационного совета: То есть люциферазы нет?

Илья Ямпольский, диссертант: Люциферазы нет.

Председатель диссертационного совета: Люциферин есть, а люциферазы нет?

Илья Ямпольский, диссертант: Совершенно верно.

Председатель диссертационного совета: Понятно. Спасибо. Есть еще вопросы? Да, прошу.

Козлов Сергей Александрович: Спасибо за доклад. Такой вопрос, я так понимаю, что всегда есть в хемилюминесценции связка - люцифераза и субстрат, который она делает. Такой вопрос, если мы пытаемся, допустим, создать аналоги с различными квантовыми выходами, с различным спектром испускания, как мы должны действовать, мы должны ориентироваться на то, что к каждому аналогу должна быть своя люцифераза, или мы можем выделить какую-то структурную единицу, или пытаюсь какими-то аналогами создать набор для одной люциферазы разных субстратов, которые там, допустим, при разных физических или каких-нибудь воздействиях могли один загораться, а другой не загораться?

Илья Ямпольский, диссертант: Спасибо большое. Да, ну на самом деле вы совершенно правы в том, что если в реакции какой-то есть два участника, то можно пытаться вмешиваться в структуру каждого из них. Вот есть нативный комплект люциферин-люцифераза, можно пытаться модифицировать люциферин, а можно пытаться модифицировать люциферазу. Так и делается, и по отдельности, и в комбинации. То есть на сегодняшний день для всех известных люциферинов описаны десятки, для некоторых сотни структурных аналогов, которые проявляют активность, а также множество модифицированных ферментов. И, например, многие биотехнологические

компании, которые коммерциализируют технологии, они пытаются разработать самый лучший люциферин для какого-то конкретного приложения, и к нему дизайнировать соответствующую люциферазу. То есть существует много на рынке и в литературе рекомбинантных люцифераз и аналогов люциферинов. Они работают, они продаются. То есть мы, например, в этой работе как раз модифицировали структуру люциферина, здесь необходимо иметь в виду, что мы не можем изменять функциональную часть, которой в данном случае является гидроксипиранон, а все остальные части, которые непосредственно в механизме реакции не задействованы, мы можем менять. Вот мы здесь синтезировали 6 аналогов, из них 5 оказалось активными. То есть фермент достаточно толерантен к изменениям субстрата, чтобы активность сохранилась в данном случае. Но не ко всем, вот, например, производное с тиофеном не обладало люминесценцией. В случае с люциферинотриптином нам тоже удалось синтезировать модифицированный люциферин, который обладал заранее заданными спектральными свойствами, он тоже оказался активен с люциферазой. Я ответил? Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Еще вопросы. Да, есть, кажется, прошу, Габиров.

Габиров Александр Габирович: Илья, спасибо за ваш доклад. Ну ваша работа имеет в основном прекрасное синтетическое обоснование, но поскольку речь идет о живых организмах, то конечно все реакции носят каталитический характер. К ряду реакций вы сумели предложить гипотетически обоснованные соответствующие биокатализаторы, в ряде реакций это пока невозможно или затруднительно сделать. Не могли бы вы тем не менее выделить, не говоря о всем дисплее этого состояния, те стадии метаболизма, которые вызывают ваши опасения, и по тем энергиям активации реакций, которые нужно осуществлять, у вас пока в общем-то

кандидатных ферментов нет. Ну хотя бы 2-3, вот 2-3 стадии, которые с точки зрения энергии активации у Вас вызывают опасения. Спасибо.

Илья Ямпольский, диссертант: Спасибо.

Габибов Александр Габибович: Есть еще методический вопрос, значит, связанный, так сказать...

Председатель диссертационного совета: Давайте по очереди, вопрос – ответ. Прошу.

Илья Ямпольский, диссертант: Александр Габибович, спасибо за вопрос. Но, на самом деле мне приятно ответить на этот вопрос, потому что как раз именно в сотрудничестве с Вашей лабораторией мы с коллегами, с Иваном Смирновым и с Юлианой Мокрушиной, мы занимаемся и успешно занимаемся клонированием и секвенированием и экспрессией вот этих ферментов. То есть на самом деле на сегодня, я хотел потом про это сказать, но раз Вы спросили, я могу сейчас Вам показать слайды. Вот эти два фермента – люцифераза грибов и гиспидин гидроксилазу – мы в сотрудничестве как раз с Вашей лабораторией заклонировали, ферменты полученные рекомбинантные, они активны, и в принципе мы уже готовы это опубликовать. Или я не на тот вопрос отвечаю?

Габибов Александр Габибович: Да. Нет-нет, на тот вполне. В основном по первой части работы, я бы сказал так виртуально, у Вас есть опасения внутренние, что нет пока в природе описанных ферментов, которые по Вашей схеме могли бы осуществлять катализ этих реакций?

Илья Ямпольский, диссертант: Этим это каких, можно уточнить?

Габибов Александр Габибович: Ну вот в первом случае Вы сделали аналог, то есть не аналог, а в общем модельное соединение, которое неплохо по-вашему, вашим соображениям. Нет, Вы ответили на, второй частью Вы вполне ответили на мой вопрос.

Илья Ямпольский, диссертант: Вы про люциферин фридерии говорите?

Габибов Александр Габибович: Нет, вот первый Ваш, совсем первая часть Вашей работы, у вас был прекрасный синтез, в котором Вы объясняли, как может все работать.

Илья Ямпольский, диссертант: А, вот этот про хромофоры. Я понял, извините, не сразу понял.

Габибов Александр: Да, да, да. Вот тут не все, да, вот, так сказать, по Вашему мнению.

Илья Ямпольский, диссертант: А, вот новый хромофор, я понял.

Габибов Александр Габибович: Вторая часть тоже прекрасно соответствовала, корреспондировала моему состоянию.

Илья Ямпольский, диссертант: Да. На самом деле, чтобы получить такой хромофор, он может образовываться только из остатка глицина, да, потому что в случае других остатков, здесь не два водорода в этом положении находится, а водород и алкил. Вот поэтому для того чтобы такой хромофор получить в составе флуоресцентного белка, необходимо ввести внутрь мутагенезом, или взять из имеющейся палитры белок, в котором в данном положении находится остаток глицина, это первое. А второе, это уже каталитические вопросы.

Габибов Александр Габибович: Ну тут энергия клеток небольшая, да.

Илья Ямпольский, диссертант: Да, энергия клеток небольшая. Вот эта реакция происходит самопроизвольно на воздухе в течение минут, поэтому все, что нужно кроме глицина для этой реакции - это основной катализ и доступ кислорода.

Габибов Александр Габибович: Там все-таки у Вас дальше точно ферментативные должны быть процессы.

Илья Ямпольский, диссертант: Да, конечно. Ну, я думаю, что рано или поздно мы увидим такой белок, да.

Габибов Александр: Спасибо. И технический вопрос. Спасибо, я получил представление, я рад, что Вы об этом думаете. А вот технический вопрос,

меня немножко резануло, Вы с каким-то упорством пытались на, так сказать, флюидной хроматографии разделить люциферин и люциферазу, и как-то этому уделяли... Ну тут, по-моему, очевидно, это субстрат низкомолекулярный, или я чего-то здесь не увидел такого, что, так сказать, в общем, занимать должно.

Илья Ямпольский, диссертант: Да, спасибо, я понял. С удовольствием отвечу. Как раз на самом деле вот этот этап, о котором Вы говорите, если я Вас правильно понял, он в действительности самый важный для изучения любой новой люминесцентной системы, самый сложный. И именно на нем как правило застопориваются в первую очередь работы на эту тему. И вот, например, в случае с грибами, да, именно на этом застопорились работы других ученых. И во многих других случаях. Почему? Потому что, когда вы берете экстракт биомассы, как правило, он сам по себе люминесцирует. Вот вы, условно говоря, гомогенизируете биомассу, и она начинает светиться, и светится пока не погаснет. Это так называемый этап работы *ex vivo*, то есть *in vivo* – это когда ползает и светится, *ex vivo* – это когда гомогенат светится. А вот тот этап, о котором я говорю и о котором вы спрашиваете, это этап *in vitro* – вот переход от этапа *ex vivo* к *in vitro* является самым сложным этапом работы, потому что неизвестно - какие компоненты, какие у них свойства, неизвестно сколько их. Вот я об этом в докладе из-за ограничений по времени не стал подробно говорить, на самом деле вот в реакции фридерииции не два компонента, а пять. Это люциферин, люцифераза, ион магния, АТФ и кислород.

Габиров Александр: Нет, Вы назвали биокатализатор и эффекторы и субстраты.

Илья Ямпольский, диссертант: Правильно. Но мы же, когда имеем дело с новой системой, мы не знаем какие именно там эффекторы. Иногда вместо АТФ бывает там НАДФ-Н или НАД-Н, а иногда какие-то неизвестные кофакторы. И вот понять, сколько кофакторов, какие у них свойства,

некоторые из них деградируют при проведении манипуляций, особенно белки, ну и легко окисляемые кофакторы, такие как НАД-Н тот же, с ними не очень просто работать. Вот на самом деле разработать так называемый assay биоломинесцентный, то есть перейти от этапа *ex vivo* к этапу *in vitro*, это очень существенная часть работы, и она как раз занимает больше всего времени. Когда у вас есть отдельная активность в растворе, выделить ее с помощью хроматографии – это уже техническая задача, которая в общем-то стандартными способами решается. А вот этот этап он является нестандартным.

Габибов Александр Габибович: Можно ли переформулировать Ваш ответ, что Вам очень было важно, потому что, найдя люциферазу, уже гипотетически можно понять какие компоненты, все-таки. Можно ли переформулировать Ваш вопрос, что Ваши основные усилия состояли в том, чтоб показать действительно какие вот в данном случае компоненты участвуют, и убрать все опасения, что здесь что-то есть абсолютно иное.

Илья Ямпольский, диссертант: Да, да, это была очень важная часть работы. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Договорились, спасибо. Татьяна Владимировна, Ваш вопрос.

Овчинникова Татьяна Владимировна: Я, Илюша, я хочу поздравить с прекрасной работой, замечательным докладом, но вот своим вопросом хотела бы обратить внимание аудитории на очень красивую часть Вашей работы, которую Вы назвали «Новая пептидная химия». Ну гамма-аминомасляная кислота, допустим, гомоаргинин, это я себе представляю, вот относительно пептидной связи через эpsilon-аминогруппу лизина, Вы, наверное, изучали этот вопрос, это где-то еще встречается, насколько это распространено, или это действительно уникальное?

Илья Ямпольский, диссертант: Спасибо. Как раз не встречается, и поэтому мы и назвали «новая пептидная химия». Но вопрос, спасибо большое за

вопрос, на самом деле нам очень интересно, как происходит..., сейчас я покажу эти структуры, нам действительно очень интересно, как происходит биосинтез этого ряда соединений. На самом деле их там гораздо больше, мы только часть из них выделили. Вот тут порядка десятка нам удалось выделить и охарактеризовать, а на самом деле вот в экстрактах биомассы их там многие десятки как минимум таких странных пептидов. У нас есть предположение, скорее всего это какое-то неспецифическое амидное лигирование происходит, то есть, есть какая-то лигаза амидов, пептидов, да, для которой необходима активация карбоксильных групп тем или иным способом, например, с помощью аденилирования, и затем, поскольку соединений много, скорее всего это может быть один фермент или 1-2 фермента, которые осуществляют неспецифическое лигирование любых карбоксильных групп с любыми аминокеттами. Мы сейчас занимаемся тем, что пытаемся найти этот фермент, идентифицировать его.

Овчинникова Татьяна Владимировна: Но тем не менее, альфа-аминогруппа лизина свободна, а эпсилон-аминогруппа ...

Илья Ямпольский, диссертант: Вот да, я и говорю, обычно альфа-аминогруппа аминокеттов в стандартном случае в ходе рибосомального синтеза пептидов задействуется. А если есть неспецифическая лигаза, которой все равно какая аминокетта, вот она скорее всего так и делает, потому что вот в аминокеттосляной кеттоте это тоже не альфа-аминогруппа, и не альфа-аминогруппа кодированной кеттоты тем более. Еще интересный вопрос, можно было бы здесь задаться таким вопросом, а какая биологическая функция этих пептидов? Вот мы и над Вашим вопросом, и над этим вопросом сейчас работаем. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Есть ли еще вопросы? Я понимаю, что их может быть бесчисленное количество, тем не менее, у меня как у ведущего есть основания перейти к заслушиванию отзывов. С вопросами

покончено. Спасибо, можете отдохнуть, Илья, пока. Речь идет об отзывах. Значит, с чего мы начинаем. Да, отзыв ведущей организации, давайте.

Ученый секретарь: (зачитывает отзыв, отзыв прилагается, отзыв положительный). В совет поступил отзыв ведущей организации. Ведущая организация - это Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Отзыв полностью положительный.

Председатель диссертационного совета: Илья Викторович, отвечать будем на замечания или соглашаемся? Решайте.

Илья Ямпольский, диссертант: Соглашаемся.

Председатель диссертационного совета: Замечательно. С замечаниями согласны, спасибо.

Илья Ямпольский, диссертант: Спасибо. Ну там вроде только редакционные замечания, опечатки и так далее.

Председатель диссертационного совета: Логично. Соглашаемся. Дальше по процедуре у нас слово имеет руководитель, в данном случае у нас консультанты. Положено давать консультантам слово? Я бы дал. Никаких не может возникнуть процедурных замечаний?

Ученый секретарь: Нет, не может.

Председатель диссертационного совета: Не может. Тогда прошу. Академик Лукьянов Сергей Анатольевич.

Консультант академик Лукьянов Сергей Анатольевич: (даёт характеристику диссертанту, отзыв положительный). Уважаемые коллеги, я хочу начать с того, что похвалить не Илью, а себя. Дело в том, что Илья пришел к нам тогда, по-моему, еще в группу в составе лаборатории Евгения Давыдовича Свердлова полностью сформированным химиком. И он попал в окружение генных инженеров матерых, и конечно у него был большой соблазн сместить свою деятельность в этом направлении. Он неоднократно даже с этими предложениями ко мне подходил. Но я был тверд и говорил, что

генных инженеров у нас достаточно, а вот химиков у нас нет других, а в Институте биоорганической химии это неправильно, и в перспективе лишает нас адекватного развития. Вот и эта линия была удержана и успешно совершенно Илья много лет развивал у нас настоящую биоорганическую химию, что очень приятно, потому что Институт у нас биоорганической химии. Теперь, если говорить о работе, то хотелось бы сказать, что вот несколько лет назад Осаму Шимомура, о котором Илья говорил в ходе доклада, нобелевский лауреат, получил в Красноярске мега-грант на исследование биолюминесценции, и в течение трех лет шла у нас совместная работа, которой фактически руководил Илья. Работа продолжается до сих пор, и она оказалась фантастически успешной, потому что то, что не решалось десятилетиями, вообще новых люцифериннов не открывали уже, по моему, лет 20, это очень действительно сложный технический процесс. А усилия по всему миру предпринимались непрерывно, по крайней мере в отношении грибов – несколько групп ведущих работало. Так вот, в ходе 5-летнего проекта были вскрыты люциферины, и в итоге вот клонирована сейчас люцифераза – абсолютно новый белок, не буду больше ничего говорить, потому что это целый пласт новой работы, которая, я думаю, вот тех наработок, которые были представлены в работе, хватит на десятилетия многим научным коллективам. А сам Шимомура написал письмо мне, что на сегодня в области биолюминесценции равных вот тому коллективу, который у нас в институте работает, его нет в мире. Мы в нашем институте стали абсолютными лидерами, вот это я могу достаточно уверенно сказать, что основные тренды в исследовании биолюминесценции они задаются теперь здесь, и в сотрудничестве с Японией, и с Бразилией, и с рядом лабораторий в Европе, Америке, это очень-очень приятно. Ну а Илья вот тем не менее все-таки в итоге уже в новом статусе завел у себя генную инженерию и стал клонировать белки, но я думаю теперь уже это позволительно, тем более у меня ни времени, ни сил блокировать процесс нет. Еще в заключении я хотел

бы обратить вот такое внимание, насколько я понимаю, вот группа Ильи она теперь вполне созрела до лаборатории, у вас, Илья, одна ставка, вас как старшего научного сотрудника и полставки, по-моему, которая по молодежным квотам. То есть все, что здесь представлено, за этим стоит, так вот, от института работа полутора ставок. Мне кажется, надо обратить внимание, что здесь задел огромный, и я вот считаю, что при возможности этот коллектив нужно усиливать. А так я призываю голосовать «за», мне кажется – прекрасная работа и очень сильные представлены данные.

Председатель диссертационного совета: Спасибо. Я не вижу Иосифа Исаевича, второго консультанта научного.

Консультант академик Лукьянов Сергей Анатольевич: Гительзон в Красноярске, не прилетел.

Председатель диссертационного совета: Я поэтому и говорю, я не вижу его, поэтому будем двигаться дальше. Дальше есть ли отзыв на автореферат?

Ученый секретарь: (зачитывает отзыв, отзыв прилагается, отзыв положительный). В совет поступил один отзыв на автореферат. Отзыв полностью положительный. Я его зачитывать не буду. Это зав. лабораторией молекулярной онкогенетики, зам. директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук. Подписал доктор биологических наук, профессор РАН, Коробко Игорь Викторович.

Председатель диссертационного совета: Один отзыв да? Там замечаний нет, поэтому можем двигаться дальше. Дальше по-видимому переходим к отзывам оппонентов. Профессор Смушкевич Юрий Исаевич, д.х.н., проф. кафедры органической химии РХТУ имени Д.И. Менделеева.

Официальный оппонент Смушкевич Юрий Исаевич. (Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)

Председатель диссертационного совета: Хотя все ясно, тем не менее, Илья Викторович, вам слово для ответа на замечания.

Илья Ямпольский, диссертант: Юрий Исаевич, спасибо Вам большое за Ваш отзыв. Насколько я понял, есть одно критическое замечание по поводу поведения индола в том белке, о котором я говорил. Вот я себе позволю не согласиться с замечанием, потому что Юрий Исаевич говорит о константах рКа, которые измерены для отдельных функциональных групп. А белок является цельной молекулой, в которой наблюдается взаимное влияние функциональных групп. И вот в результате эффективное рКа белка нашего оно лежит в районе 7, это значит, что в нейтральной среде половина молекул, не одна там какая-то 10 в минус 17-ой из моля, а именно $\frac{1}{2}$ молекул при рН 7 содержит депротонируемый хромофор. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Спасибо, двигаемся дальше. Предоставляю слово Загайновой Елене Вадимовне, директору НИИ Биомедицинских технологий Нижегородской государственной медицинской академии Минздрава РФ, д.мед.н.

Официальный оппонент Загайнова Елена Вадимовна. (Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).

Председатель диссертационного совета: Спасибо Вам за отзыв, Елена Вадимовна. Диссертант имеет право ответить на замечание.

Илья Ямпольский, диссертант: Елена Вадимовна, большое спасибо, что взяли на себя труд прочитать работу, написать отзыв, и особенно за то, что вы специально приехали на защиту из Нижнего Новгорода сегодня. Вот, там два замечания было, я так понял, одно по поводу неудачной формулировки в литобзоре, я согласен. И по поводу дождевого червя, это просто опечатка. Это не дождевой червь, это почвенный червь, надо было так написать. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Понятно. Итак, третий официальный оппонент Исмаилов Анвар Джураевич, д.б.н., ведущий научный сотрудник кафедры микробиологии Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Официальный оппонент Исмаилов Анвар Джураевич. (Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)

Председатель диссертационного совета: У диссертанта есть право ответить на замечания. Он наверняка читал отзыв, и, если есть желание, он может ответить. Вот они замечания по обзору по-моему.

Илья Ямпольский, диссертант: Анвар Джураевич, спасибо за такую неформальную рецензию. С редакционными замечаниями я бы согласился. Мне понравился вопрос, почему если вымочить мицелий светящийся в дистиллированной воде, то в 100 раз примерно возрастает концентрация всех компонентов, и, соответственно, свечение тоже возрастает. Если взять такой вымоченный мицелий, в целлофановом пакете внести его в комнату, то почти что становится возможным читать в этой комнате. На самом деле у грибов по-видимому есть какая-то сложная циркадная регуляция свечения, это показано опытами, тоже я про них сейчас не говорил, в сотрудничестве с бразильскими коллегами. И вообще это очень хорошая интересная модель чтобы изучить эту циркадную регуляцию, потому что всего в природе на сегодня известно три системы циркадной регуляции принципиально различных, и все они, кстати говоря, были открыты, изучены людьми, которые стояли у основания вот новых люциферинов, потому что это очень тесно связанные вещи, циркадную регуляцию очень удобно изучать на примере биолюминесцентных систем. И я так думаю, что скорее всего в грибах есть какая-то новая четвертая принципиально отличная система циркадной регуляции, и мы ее собираемся изучать. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Спасибо. Итак, мы закончили предварительно заготовленную часть нашей процедуры защиты, и переходим к общей дискуссии. Кто бы хотел подискутировать по поводу предстоящего голосования? Какие-то рекомендации, какие-то комментарии, какие-то пожелания на будущее. Прошу.

Лебедев Юрий Борисович: У меня очень короткая ремарка. У нас сегодня хороший большой праздник не потому, что мы присуждаем ученую степень доктора как констатацию вполне заслуженных успехов, а поднимаем планку выше, продолжая родившуюся в институте традицию рассматривать защиту докторской как рождение нового направления. Но даже по таким стандартам Илья Ямпольский, который не подходит ни под какие стандарты, он тем не менее сказал еще что-то новое. И я хочу отметить, что этот человек удивительным образом сочетающий постоянную абсолютно неординарную увлеченность в смежных к своей родной любимой химии науках с высочайшей требовательностью и к себе и к окружающим. И те выступления Ильи, которые мы слышали неоднократно на ученом совете, позволяют мне предполагать, что появление доктора Ямпольского в стенах института поднимет планку не только для него, но и для всех остальных, чего я с нетерпением ожидаю в самом ближайшем будущем. А голосовать конечно призываю всех «за».

Председатель диссертационного совета: Спасибо. Кто еще хотел бы поделиться? Николай Владимирович, прошу.

Бовин Николай Владимирович: Мне, естественно, работа очень понравилась, и естественно я призываю всех голосовать за эту диссертацию. Хочу сказать только одно, что я, идя сегодня на эту защиту, думал, что услышу обобщение того, что уже раньше слышал на ученых советах в докладах Ильи, на защите кандидатской диссертации, на отчетах, и так далее. И к своему изумлению я понял, что далеко не все, что сегодня докладывалось, я раньше не то что слышал, а вообще знал о том, что такие работы ведутся. Это было очень приятное удивление. Так вот, это значит, что исследователя просто, извините за несколько грубое выражение, распирает от результатов, и мне хотелось бы пожелать, чтобы вот это вдохновение не кончалось и его и дальше научными результатами распирало и распирало. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Спасибо, он постарается. Кто еще хотел бы поделиться. Александр Габибович, прошу.

Габибов Александр Габибович: Да, ну здесь очень много перевели на личностный подход. Я скажу, что мне очень нравится синергетическое отношение к общенаучным проблемам и химическим Илья, а дальше о самой работе. Значит, эта работа была заслушана не без моей, так сказать, настоятельной рекомендации на нашем семинаре институтском под руководством Вадима Тихоновича, и она, в общем-то подверглась очень я считаю хорошей рецензии, такому хорошему обсуждению, и я тоже в некоторых случаях бываю упертый, я считаю, что все диссертации, даже кандидатские, должны подвергаться достаточно четкому обсуждению на больших наших семинарах, потому что, чем больше мнений, тем лучше и для диссертанта, и для нашего института. И вот в данном случае был прекрасный пример вот такой активности. Теперь о самой работе. Она действительно, на самом деле здесь все говорили очень хорошее, поскольку я точно ее очень люблю, я скажу, что она несколько эклектична в мелочах, но конечно общий такой пайплайн всего исследования он очевиден. Действительно это были вот представлены нам картинки, этапы исследования, но все они объединены единой целью. Что мне очень нравится, что Илья всегда, мы с ним довольно много по науке говорим, что он очень хорошо отвечает на, так сказать, вот вызовы времени, на то, что вот, ну мой основной такой консерн, вы его слышали, я всегда высказываюсь, что к каждой реакции придется искать свой фермент. Так работал Браунштейн, открыв, значит, пиридоксальный катализ катализ, и потом были открыты, в общем показано какой этап метаболизма этих органических соединений осуществляется действительно в организмах в разных, и был открыт комплекс ферментов. Вот я думаю, что Илья действительно, надеюсь, что их все-таки будет не многодесятилетнее исследование, мы не можем предугадать, что будет за десятки лет, а что в достаточно сжатые сроки использование клонирования, используя

протеомный анализ, то есть можно ускорить целый ряд процессов и открыть те ферменты ответственные за те стадии, которые в общем-то в разумные времена проводятся в живых организмах. Это, по-моему, прекрасно, поэтому я бы сказал, что, хотя диссертация совершенно справедливо защищается по биоорганической химии, но она конечно будет носить, ее дальнейшие перспективы – это биохимия растений, животных, и целый ряд других ответвлений так сказать фотоумножения. Спасибо большое. Вот я призываю также всех голосовать «за».

Председатель диссертационного совета: Есть еще желающие выступить? Я скажу пару слов как директор института. Я солидарен с тем, что говорил Сергей Анатольевич по поводу того, что очень здорово, что у нас в институте не то чтобы зарождается, во всяком случае заметно усиливается работа, связанная, скажем так, с базовой биоорганической химией, то есть, с решением биологических проблем с помощью методов органической химии. Структурный анализ, синтез и так далее. Но мне кажется, что на самом деле значение этой работы шире, поскольку вот эта работа чисто биоорганическая тянет за собой целые пласты работ и более широкого биологического профиля. Есть у нас и чистая белковая химия, и белковая и геновая инженерия, и более того, и геномные аспекты тоже поднимаются. Я так понимаю, у вас в итоге эта работа стимулировала анализ целых геномов тех организмов, которые и послужили источником ваших объектов исследований. Поэтому в высшей степени положительно оцениваю то, что сегодня происходит, это праздник действительно. Призываю всех голосовать соответственно. Спасибо. Если нет желания продолжить дискуссию, то, я считаю, что мы можем двигаться дальше и избирать счетную комиссию. А нет, я должен дать слово диссертанту для заключительных своих мыслей. Вам заключительное слово, Илья.

Илья Ямпольский, диссертант: Коллеги, спасибо, очень приятно услышать похвалу. Я позволю себе еще 30 секунд вашего внимания занять. Вот, за

последний месяц были получены результаты, которые уже не вошли естественно в работу, потому что она три месяца уже должна быть вывешена на сайтах. Но вот скоро мы вам покажем, я надеюсь, на этом совете еще один люциферин, который уже расшифрован, просто я о нем сегодня не говорил. Вот это дрожжи, которые экспрессируют активную люциферазу грибов. А это клетки человека, НЕК, которые тоже экспрессирует активную люциферазу грибов. А это они же в режиме люминесцентной микроскопии сняты, то есть люминесцентная микроскопия позволяет только очень хороший сильный сигнал регистрировать. Просто люминометр видит 1 фотон, а люминесцентный микроскоп – нужен яркий сигнал. Вот эти клетки, по моему, позавчера были засняты на микроскопе, и вот у них люминесценцию видно, что позволяет на субклеточном уровне ее локализовать. Ну и наконец, конечно же, я хотел большой список благодарностей, чтоб никого не забыть, я зачитаю. Вот, хочу сказать, что вообще такая работа возможна только в командном режиме, и над этими проектами работала большая международная команда, всем участникам которой я очень благодарен. Сейчас постараюсь детализировать. В первую очередь я хочу поблагодарить своих научных консультантов, Сергея Анатольевича Лукьянова, Иосифа Исаевича Гительсона, и Осаму Шимомуру за возможность перенимать у них опыт научного мышления, организационной работы, вообще отношение к научной работе, а также за их поддержку. Также я хочу поблагодарить всех, кто непосредственно экспериментально участвовал в этой работе, это сотрудники настоящие и бывшие группы под моим руководством, это Павел Ивашкин, Светлана Постикова, Александра Царькова, Зинаида Осипова, Михаил Баранов, Надежда Балеева, Андрей Горховатский, Алексей Котлобай, Елена Гугля, Татьяна Чепурных. Хочу поблагодарить своих красноярских коллег, в первую очередь Валентину Петушкову, Наталью Родионову, Константина Пуртова и весь коллектив Института биофизики РАН, в котором они работают. Также хотел поблагодарить Константина Анатольевича Лукьянова

и сотрудников его лаборатории Биофотоники нашего института, в особенности Карена Саркисяна, Екатерину Серебровскую, Надежду Маркину и Александра Мишина. Также я хочу поблагодарить сотрудников лаборатории ЯМР спектроскопии нашего института под руководством Александра Сергеевича Арсеньева, в особенности Михаила Дубинного и Константина Минеева. Также я выражаю благодарность коллективам Лаборатории молекулярных технологий под руководством Всеволода Белоусова и Геномики адаптивного иммунитета под руководством Дмитрия Чудакова. Также сотрудникам технопарка ИБХ и компании «Евроген». Также хочу поблагодарить моих коллег из лаборатории Александра Габибовича Габибова, в особенности Ивана Смирнова и Юлиану Мокрушину. Также сотрудников Лаборатории масс спектроскопии Рустама Зиганшина, Сергея Ковальчука, сотрудников нашего института Константина Антонова, Вадима Кублицкого и Владимира Шмыгарева. Также я благодарен сотрудникам РНИМУ им. Пирогова Максиму Абакумову и Денису Ребикову. На самом деле все эти люди участвовали в работе, все, кого я перечисляю. Также своих зарубежных коллег, Касиуса Стевани, Андерсена Оливейру, Юичи Обу, Кирилла Солнцева и Федора Кондрашова – эмигрантов. Отдельно я хочу поблагодарить Сашу Царькову за огромную помощь в технической работе при подготовке диссертации. Также я благодарю своих оппонентов - Елену Вадимовну Загайнову, Анвара Джураевича Измаилова, Юрия Исаевича Смушкевича. Также хочу поблагодарить представителя ведущей организации Александра Павловича Савицкого. Ну и наконец, в заключение хочу поблагодарить создателей уникального биологического класса 43-ей школы-гимназии на Юго-Западе, в котором я учился, это - Сергей Менделевич Глаголев, Владимир Константинович Паракецов, Андрей Николаевич Квашенко, Игорь Леонидович Окштейн и Владимир Викторович Чуб. Ну и наконец, я благодарю своих родных и близких за поддержку. Спасибо.

Председатель диссертационного совета: Спасибо. Двигаемся дальше. Вашему вниманию предлагается следующий состав счетной комиссии, без имен, отчеств, без регалий: Дзантиев, Формановский, Олейников. Самоотводов не будет. Названные лица уже дали согласие. Есть ли отводы? Есть ли возражения против данного состава счетной комиссии? Не вижу. Счетная комиссия, считаем, что уже утверждена. А теперь с нетерпением ждем итогов подсчета голосов.

(Проводится тайное голосование).

Председатель счетной комиссии д.ф.-м.н. Олейников В.А.: (оглашает результаты тайного голосования). Я представляю итоги подсчета голосов. Значит, Ямпольский Илья Викторович, присутствовало на заседании 23 члена совета, роздано - 23, в урне бюллетеней - 23, за - 22, против - 1, недействительных - нет.

Председатель диссертационного совета: Понятно. Есть ли возражения против утверждения данного голосования? Нет. Утвердили это голосование.

(Проходит голосование по проекту заключения совета. Принято единогласно)

Председатель диссертационного совета: Ну что поздравим диссертанта с защитой. Спасибо за работу.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

В.Т.Иванов

Учёный секретарь диссертационного совета
доктор физико-математических наук

В.А. Олейников

