



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
24 мая 2017 года

Защита диссертации
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
Ермаковой Юлии Геннадьевны

**Новые оптогенетические технологии в активации и
визуализации процессов в нейронных сетях**

специальность – 03.01.03 – молекулярная биология

Москва 2017

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 24 мая 2017 года.

Председатель диссертационного совета

академик РАН **Иванов В.Т.**

Ученый секретарь диссертационного совета

д. физ.-мат. н. **Олейников В.А.**

Из 30 членов совета присутствует 23 человека, из них докторов по профилю диссертации – 7.

1.	Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2.	Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
3.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
4.	Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
5.	Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06)
6.	Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
7.	Член-корр. РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
8.	Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
9.	Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
10.	Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
11.	Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
12.	Академик РАН	Лукьянов Сергей Анатольевич	(03.01.03)
13.	Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
14.	Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
15.	Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
16.	Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
17.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
18.	Академик РАН	Свердлов Евгений Давидович	(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)

Иванов Вадим Тихонович

- Дорогие коллеги, доброе утро. Мне вот докладывают, что у нас есть кворум нашего совета защитного. Есть основания приступить к работе. Итак, первая защита – Ермакова Юлия Геннадьевна. Материалы личного дела нам доложит ученый секретарь.

Олейников Владимир Александрович

Материалы личного дела (*зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя и все необходимые документы в деле есть*).

Иванов Вадим Тихонович

- Есть ли замечания, вопросы, дополнения? Видимо все корректно. Даю слово диссертанту. Юлия Геннадьевна, Вам 20 минут на доклад.

Ермакова Юлия Геннадьевна, диссертант:

(Излагает основные положения диссертационной работы).

Иванов Вадим Тихонович

- Спасибо за доклад. Переходим к обсуждению. Вопросы.

Чугунов Антон Олегович

- Спасибо за хороший доклад. Я бы хотел узнать про механизм действия сенсора.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Здесь надо смотреть на структуру ОхуR. На самом деле структурные изменения, происходящие в детекторной части сенсора НуPer, представленного регуляторным доменом ОхуR, обеспечиваются за счет формирования связи между двумя этими цистеинами, один из которых 199 погружен в структуру, так называемого, гидрофобного кармана. Благодаря чему он в обычном состоянии поддерживается в анионной форме, что облегчает реакцию с пероксидом водорода, который обладает относительно низкой реакционной способностью среди других АФК. А при взаимодействии с цистеином, сначала с пероксидом водорода, этот цистеин окисляется, выходит из кармана, и образует связь с остатком цистеина 208, что приводит к сбору фрагмента альфа-спирали в структуре ОхуR. Вот этот маленький кусочек, который раньше здесь присутствовал, теперь отсутствует в структуре ОхуR. Эти изменения структурные, происходящие в части ОхуR сенсора НуPer, через полипептидные линкеры передаются на круговой пермутант флуоресцентного белка. Я думаю, в этом случае не так важно, какой именно флуоресцентный белок, главное, чтобы он был чувствительным в варианте кругового пермутанта, находится в составе сенсора. Что, в последствии, приводит к изменению сети водородных связей, окружающих хромофор и, соответственно, к изменению спектральных свойств сенсора.

Ефремов Роман Гербертович

- Так как это ваша диссертационная работа, хотелось бы узнать, что конкретно сделали вы? Планировали эксперименты, работали над текстом, принимали участие в измерениях?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- На самом деле, первая часть работы, которая касается сенсора НуPer, целиком выполнена в нашей лаборатории. Поскольку я приступила к ней аспирантом, то по сути я практически всю ее сделала руками. Конечно, основная формулировка работы – это заслуга моего руководителя Всеволода Владимировича Белоусова. Но, как известно, в процессе

работы всегда возникает много дополнительных вопросов и сложностей, которые приходится решать. Поэтому я бы сказала, что HyPerRed по большей части состоит из моих результатов работы. Вторая часть работы посвящена термогенетике и естественно является очень междисциплинарной. В ней принимали участие 3 группы: сотрудники физического факультета МГУ им. Ломоносова из групп Алексея Михайловича Жёлтикова, а также сотрудники ИВнд РАН Павла Милославовича Балабана. В части термогенетики к моей работе можно отнести способы, разработку экспрессии TRPA1 в наших системах, подготовку практически всех клеточных моделей, все планирование, разработку флуоресцентного мечения, иммунохимическое окрашивание, участие в измерениях.

Иванов Вадим Тихонович

- Следующий вопрос, Роман Гербертович.

Ефремов Роман Гербертович

- Большая часть работы была сделана коллегами? Вы отразили это в диссертации?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Да конечно. В основном и в результатах, и в методах, потому что часть методов стимуляции просто было бы сложно написать биологу.

Ефремов Роман Гербертович

- Вопрос по зависимости интенсивности флуоресценции от пероксида водорода. На сколько приблизительно возрастает интенсивность флуоресценции?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- На белке нам удалось получить до 80% увеличения флуоресценции.

Ефремов Роман Гербертович

- То есть, речь идет о белке в воде, то есть раствор белка он растворим?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Да, он растворим. Он находится в буфере фосфатно-солевом.

Ефремов Роман Гербертович

- Вы утверждаете, что интенсивность флуоресценции зависит от pH? Это тоже модельный эксперимент?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Да, это тоже модельный эксперимент. Мы проводили их как на белке, так и при титровании сенсора в клетках эукариот. В данном случае используются антибиотики-ионофоры, которые позволяют с помощью смены буферов менять pH в цитоплазме клеток.

Ефремов Роман Гербертович

- Все-таки насколько вы уверены, что именно пероксид водорода влияет на изменение флуоресценции клеток? Может быть, это локальное изменение pH,

которые могут измерены интегральными методами. На сколько все-таки работает пероксид? Может быть опосредованно действует пероксид?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- На самом деле, мы всегда, когда работаем с сенсорами, сигнал которых может зависеть не только от их лигандов, но и от pH, используем pH контроль. В данном случае мы всегда используем вариант сенсоров параллельных экспериментов, у которого этот цистеин 199, основной отвечающий за его реакционную способность, заменен на серин. За счет того, что мы можем комбинировать один зеленый сенсор и один красный сенсор, один сенсор всегда выступает в виде pH-контроля эксперимента, в тех же клетках. За счет их близкой pH-зависимости сигнала, мы всегда знаем, что происходит и с pH, и с пероксидом водорода. То есть мы всегда измеряем два сенсора.

Ефремов Роман Гербертович

- Вы уверены, что pH-зависимости сенсора и его мутанта одинаковы? Вы отделяете сигналы?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Да, мы знаем, что pH-зависимость флуоресценции не тот, который содержит вместо цистеина серин 199, мы также ее определяли и *in vitro* и в клетках. Мы знаем, что она точно повторяет pH-зависимость флуоресценции исходного сенсора. То есть, в плане того, что детектирует мутант, не чувствительный к пероксиду водорода, но чувствительный к pH, это полностью воспроизводит зависимость от pH сенсора, который находится в этой системе. То есть, естественно, мы всегда следим за изменением pH в наших системах.

Ефремов Роман Гербертович

- Что такой трейн? У вас на слайде было написано...

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Это последовательность импульсов, которые мы используем для стимуляции.

Иванов Вадим Тихонович

- У вас в одной части работы был этап оптимизации структуры линкеров пептидных... Какими идеями вы руководствовались, когда оптимизировали длину, заряд этих линкеров? Или это просто случайный подбор всех возможных вариантов?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- У нас есть два сенсора. Первый это сенсор НуPer, линкеры которого в длину имеют по 3 аминокислоты, и мы знаем их аминокислотный состав. А сенсор, из которого изначально пришел круговой пермутант красного флуоресцентного белка это R-GECO, сенсор детекции кальция. И в его случае длина линкеров составляет по 2 аминокислоты.

Мы создали несколько библиотек, варьируя длину выраженных линкеров, то есть мы задавали линкеры случайными примерами, регулируя только их длину. И анализировали библиотеки. Например, в первой библиотеке оба линкера были случайные, но имели длину по две аминокислоты, в другой библиотеке один был линкер – 3 аминокислоты, как в составе НуРег, а второй - две. В третьей библиотеке оба линкера имели длину по 3 аминокислоты. И мы анализировали этот набор конструкций. То есть, мы более или менее разумно задавали длину линкеров, но не делали предположений относительно их аминокислотного состава и анализировали их на всех возможных вариантах, которые можно поймать.

Иванов Вадим Тихонович

- Вы делали перебор большого количества? Или брали какие-то фиксированные предельные цифры.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Мы брали перебор большого количества. То есть, это были выраженные последовательности.

Цетлин Виктор Ионович

- Ну, во-первых, хочу присоединиться к освещенной, уже прозвучавшей оценке доклада и короткий вопрос, прояснить: «За пределами митохондрий часто прослеживаются какие-то зависимости между выбросом кальция и появлением пероксида?»

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Я думаю, что это очень сильно будет зависеть от системы, которой пользуются клетки, потому что естественно большое количество ферментов регулируются косвенно или напрямую за счёт катионов кальция, поэтому предположить, что продукция пероксида водорода, обеспечиваемая, например, ферментами Nox, будет связана с выбросами кальция, вполне возможно, но каждый частный случай требует отдельного рассмотрения.

Патрушев Лев Иванович

- Скажите, пожалуйста, как вы интерпретируете механизмы активации пероксида водорода в эмиссии, сенсорной, это что, часть периодической концентрации, входит в часть, когда молекула окисляется?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Да, скорее всего так, потому что в принципе у каждого белка, который реагирует с определенным лигандом есть определенная константа сродства к своему лиганду, поэтому мы считаем, что на низких концентрациях не весь белок связывается с лигандом, в нашем случае окисляется, а при более высоких мы достигаем полного окисления.

Патрушев Лев Иванович

- Но тогда этот эффект будет зависеть от окружения, да и от клетки, от белков, которые хотят взаимодействовать с H_2O_2 и так далее.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Да, конечно.

Патрушев Лев Иванович

- То есть детекция непрямым методом?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Я бы сказала, что сенсоры можно отнести к полуколичественным методам детекции пероксида водорода. В лучшем случае они позволяют определить, где пероксида производится больше и как это происходит во времени. То есть их естественно нельзя использовать, как прямые индикаторы, не *in vitro*.

Патрушев Лев Иванович

- Ну да, по идее казалось, что стационарные фазы должны достигать при любых концентрациях.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Я думаю, что если бы белки, я оставляла бы их на час и более с низкими концентрациями пероксида водорода, я могла бы наблюдать этот процесс, но поскольку при комнатной температуре не все белки обладают выдающейся стабильностью, то к этим экспериментам примешивалась бы и частичное окисление сенсора за счёт просто денатурации белка.

Иванов Вадим Тихонович

- Еще какие вопросы? Переходим к следующему обсуждению. Отзыв ведущей организации.

Олейников Владимир Александрович

(Зачитывает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается).

- Значит, ведущей организацией является Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии», «Российская академия наук», институт биохимии им. Баха, отзыв полностью положительный, и я оглашу центральные позиции этого отзыва:

Во-первых, диссертационная работа Ермаковой посвящена важной теме усовершенствования генетически кодируемого сенсора NuPer для детекции физиологических концентраций пероксида водорода с получением его красной версии, а также технологии активации клеток с помощью термочувствительных каналов змей и инфракрасного излучения, указан диапазон с оптоволоконной системой доставки

излучения. Спектрально-кинетические характеристики такого инструмента, как HyPerRed полученного автора, получают комбинировать сенсор совместно с генетически кодируемыми сенсорами, со спектральными характеристиками зеленых, циановых и желтых флуоресцентных белков и более детально изучать динамику продукции и инактивации пероксида водорода в живой системе. HyPerRed расширяет панель сенсоров для детекции пероксида водорода и может быть использован в сочетании с большинством существующих сенсоров, основанных на зеленых и желтых флуоресцентных белках. С помощью этого инструмента автор обнаружил локальный кратковременный всплеск продукции пероксида водорода в матрице митохондрий, при котором не происходит распространение пероксида водорода в межмембранное пространство или цитоплазму клетки при стимуляции клеток тапсигаргином, ингибитором АТ-фазы, эндоплазматического ретикулума;

Вторая часть работы посвящена оптимизации применения термоактивируемых каналов змей. TRPA1 змеи были выбраны как инструмент термогенетики. Была описана кинетика активации терморецепторов, установлено, что при одинаковых параметрах длительности и мощности импульса кинетики развития кальциевого ответа клеток, в точности кальциевый ответ клеток в точности воспроизводится, а сама кинетика стимуляции описывается температурной константой порога, индивидуального для каждого канала.

Работа объединяет в себе 2 больших раздела: развитие технологий создания новых генетически кодируемых сенсоров и разработку способов активации клеток. Главными результатами данной работы является создание нового красного генетически кодируемого сенсора для детекции пероксида водорода HyPerRed, а также разработка *in vivo* метода термогенетики, стимуляции клеток с помощью термоактивируемых каналов TRPA1 змей, детальное описание функционирования и активации которых в различных биологических моделях позволяет расширить применение термогенетики в современной науке.

В работе есть несколько не влияющих на результат замечаний. В эксперименте по определению константы псевдо-первого порядка, реакция окисления сенсоров линии HyPerRed автору следовало бы провести дополнительную проверку полученных результатов, а для представленных данных ввести более подходящий термин, кажущееся константа скорости реакции псевдо-первого порядка реакции, так как в связи с ограничениями, связанными с диффузией пероксида водорода через межклеточную мембрану и внутри цитоплазмы клетки, выбранная экспериментальная система позволяет проводить только относительное сравнение используемых сенсоров. Также необходимо протестировать сенсор HyPerRed на чувствительность к синглетному кислороду, чтобы

дополнить данные о его специфичности. В случае презентации данных термогенетики стоит более детально указывать параметры стимуляции для каждого эксперимента, так как они отличаются в различных экспериментах. Полученный результат обладает несомненной значимостью для науки, медицины и фармакологии. Диссертация написана по традиционному плану: введение, обзор литературы и т.д, 229 ссылок, 135 страниц, 41 рисунок. Материал диссертации изложен последовательно, результаты каждого раздела диссертационной работы взаимно дополняют и логически развивают положения, установленные автором работы. Обзор литературы адекватно отражает цель работы в создании и применении кинетически кодируемого флуоресцентного сенсора, соответствует поставленным задачам, результаты можно квалифицировать как научные достижения, имеющие как фундаментальное, так и прикладное значение для молекулярной биологии, медицины и фармакологии. Приведена целая серия организаций, где могут быть применены эти результаты, высказанные замечания не умаляют результатов, полученных в работе, работа полностью соответствует требованиям положения о диссертациях ВАК, указаны конкретные постановления и соответственно автор Ермакова заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 01.01.03 «Молекулярная биология». Отзыв рассмотрен на семинаре в лаборатории физической биохимии, учреждение федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» российской академии наук и подписан заведующим лабораторией физической биохимии доктором химических наук, профессором А.П. Савицким, утвержден директором, членом-корреспондентом российской академии наук, профессором, доктором химических наук Поповым.

Иванов Вадим Тихонович

- Юлия, там вроде замечания некие, рекомендации. Отвечать будете?

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Да, буду.

Иванов Вадим Тихонович

- Ну, вам решать.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Значит по поводу замечаний ведущей организации. Первое замечание касается представления данных о сравнении кинетических характеристик сенсора NuPerRed с его желтыми аналогами Nuper-1,2,3. К сожалению, из-за определенных проблем с определением кинетических параметров наших сенсоров *in vitro*, так как их чувствительность к пероксиду водорода довольно высока, нам пришлось проводить эти измерения в клетках эукариот и замечания о том, что кажущуюся константу реакции

псевдо-второго порядка стоит рассматривать именно в виде кажущейся константы, а не просто в виде реакции псевдо-второго порядка, в этом случае оно справедливо.

Олейников Владимир Александрович

- Псевдо-первого.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Ах, да, псевдо-первого, простите. Значит следующее замечание, которое касается тестирования сенсора HyperRed относительно чувствительности к синглетному кислороду так же закономерно. Мы проводили тестирование сенсора Нурег к различным видам оксидных форм кислорода, но получение синглетного кислорода в наших условиях на этапе развития данной работы было довольно проблематично, поэтому этот вид АФК остался нерассмотренным. И третье замечание, которое касается параметров стимуляции, я постаралась исправить и, хотя бы на слайдах привести параметры стимуляции для некоторых экспериментов.

Иванов Вадим Тихонович

- Спасибо. Всеволод Вадимович, есть возможность охарактеризовать диссертанта, даю Вам слово.

Белоусов Всеволод Вадимович:

- Уважаемые коллеги, Юля пришла в нашу лабораторию, если мне память не изменяет на курсовой, тогда еще не было бакалаврской, тогда были курсовые и в этот год как бы пришло много народу на собеседование, все были сильные и было трудно выбрать. Ну и, в общем, руководствуясь какой-то интуицией мы взяли двух студентов, одной из которых была Юля, и я помню, когда мы, условно говоря, объявили результаты, Юля прыгала от радости, а я понимаю сейчас, что мне надо было прыгать. Вот. Потому что фактически в лабораторию пришел человек с удивительно взрослым подходом к науке и к жизни вообще. Ну, то есть, когда, скажем, ответственность, которую на себя человек берет, она не потому приходит, что вот уже нужно, уже вот какой-то груз лежит, а просто вот, ну если человек, на нем лежит какая-то часть работы, да, вот ему дали что-то, он это делает, потому что это нужно сделать, независимо, от того, скажем, это в данный момент интересно или нет, потому что наука всегда предполагает, что мы делаем какие-то интересные очень эксперименты и какие-то рутинные эксперименты и вот отношение Юли и к тем, и к другим совершенно одинаковое, да, то есть это все, ну, как часть работы. Именно поэтому за время пребывания в лаборатории, ну, в основном конечно в аспирантуре, Юле удалось сделать несколько проектов, которые совершенно, ну, они, во-первых, большие по масштабу, во-вторых они законченные, то есть в конце концов это вышедшие публикации, включая последнюю, которая вышла позавчера. Это еще, в первую

очередь, умение взаимодействовать с людьми, потому что прозвучал вопрос о реальном вкладе, скажем, в работу и надо, возможно это в ответе недостаточно хорошо прозвучало, что на самом деле в работе участвовало много лабораторий, особенно во второй, про термогенетику, но Юлия было непосредственно тем человеком, который участвовал во всех экспериментах и объединяла фактически работу трех лабораторий: нашу, Жёлтикова, Балабана и группу Никитина, то есть она фактически вот в работе, которая сейчас вышла, Александр Ланин из МГУ, да, именно они были теми людьми, которые ходили с этими каналами, умными рыбами и клетками из института в институт, всё настраивали, проводили эти эксперименты, то есть фактически это люди, которые делали, ну и вот Юлия с нашей стороны участвовала вообще во всех экспериментах, в каком бы институте они не происходили, то есть в принципе это ключевой вклад именно ее, она и есть тот клей, тот цемент, который склеивал и первую часть исследования и вторую. Ну, значит, формально я должен, наверное, сказать, что она самостоятельный исследователь, руководит успешно студентами, и я надеюсь, я уверен, что ее блистательная научная карьера продолжится и дальше. Хочу ее только поблагодарить, что она к нам пришла и все еще с нами.

Иванов Вадим Тихонович

- Есть еще отзывы?

Олейников Владимир Александрович

- Да, поступил один отзыв на автореферат, полностью положительный.

(Зачитывает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается). В результате анализа данной диссертационной работы Ермаковой можно заключить, что это исследование посвящено интересной, важной проблеме, получены оригинальные результаты на высоком уровне, мне кажется, что анализ автореферата диссертации позволяет заключить, что рецензируемая работа соответствует требованиям "Положения о присуждении ученых степеней". Значит, подписано членом-корреспондентом Российской академии наук, профессором кафедры биохимии биологического факультета МГУ, доктором биологических наук по специальности «биохимия» Николаем Борисовичем Гусевым.

Иванов Вадим Тихонович

- Отзыв последний, тут нет замечаний, поэтому не нужно и отвечать. Давайте дослушаем официальных оппонентов. Алексей Юрьевич Малышев, профессор РАН, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН.

Малышев Алексей Юрьевич

(Отзыв положительный. Отзыв прилагается)

- Добрый день, уважаемые коллеги! Ну я поскольку по специальности являюсь физиологом, то буду оценивать с точки зрения физиологии, точнее нейрофизиологии. Дело в том, что значительный прогресс, который в последние десятилетия наблюдается и в нейрофизиологии, в частности связан с внедрением в эту область науки различных генетически кодируемых сенсоров, белков и т.д., и собственно первая часть настоящей работы посвящена именно созданию нового, генетически кодируемого инструмента флуоресцирующего в красной области спектра – это сенсор пероксида водорода. Ну и как уже неоднократно говорилось, что ценность его является именно его спектральными характеристиками, что позволяет его использовать совместно с другими сенсорами, в частности на кальций, на pH и так далее.

Вторая часть посвящена онтогенетике и эта область, этот метод исследования нейрофизиологии особенно чувствителен к появлению таких новых генетических инструментов, поскольку это онтогенетика по определению направление при помощи света активностью нервных клеток, то с помощью светоактивируемых белков, то как раз здесь новый свет активирует появление каждого нового светоактивируемого белка, оно приоткрывает какую-то новую дверь, новую возможность в проведении исследований. Как и отмечал докладчик, одним из основных недостатков онтогенетики является небольшая глубина проникновения света, который используется для активации имеющихся каналов, вот, поэтому применение именно термочаналов, оно в перспективе позволит осуществлять контроль нейронов, которые расположены в каких-то глубинных структурах мозга. Ну, в частности, первый из таких экспериментов уже был проведен в рамках нашей работы на модельном объекте *Danio rerio*, вот. Ну, я, наверное, опущу констатирующую часть своего отзыва, поскольку это уже неоднократно звучало здесь. В общем, работа выполнена по классической, обычной схеме и все части в ней присутствуют, а новизна научная состоит в том, что впервые создан сенсор на пероксид водорода, который обладает спектральными свойствами красных белков и с помощью этого сенсора впервые была показана продукция пероксида водорода в матриксе митохондрий при ингибировании этой фазы, а также впервые отработана методика применения TRPA1 каналов змей для дистантной активации нейронов позвоночных при помощи инфракрасного света и охарактеризованы кинетические пороговые характеристики этих каналов. Ну, практическая значимость, работа лежит на поверхности. Понятно, что вот эти разработанные сенсоры будут применяться без сомнения в многочисленных исследованиях нейрофизиологических, а также практическая значимость подтверждается получением автором патента на создание сенсора HyPerRed и теоретическая значимость определяется вкладом в развитие и совершенствование методов геной инженерии и молекулярного дизайна.

Следует отметить высочайший уровень публикации по теме диссертации, то есть к сожалению, вот вторая статья вышла не так давно и не включена в автореферат, но тем не менее вот в работе есть две части и по обеим частям вышли статьи в таком журнале, как «Nature Communication» и в обеих статьях Юля является первым автором, что действительно заслуженно совершенно. Есть к работе несколько замечаний, которые носят главным образом дискуссионный характер. Несколько замечаний и вопросов.

Ну, начнем с замечаний. Значит, в обзоре литературы неправильно описан светоактивируемый канал, т.к. он отнесен к производным синтетическим, а на самом деле это природный нейронный канал и соответственно не процитирован канал, который эту работу описывает. Второе замечание, что в описании результатов экспериментов с активацией TRPA – каналов на культивируемых нейронах приведены только средние значения полученных величин без их стандартных ошибок, как это в общем сделано во всей остальной части работы. Также здесь не указано количество n , не указано количество проведенных экспериментов. Ну и кроме того, в этих экспериментах было бы уместно и логично охарактеризовать кинетику трансмембранных токов, возникающих при активации TRPA-каналов. Уж коли эти каналы были померены, то кинетику можно было охарактеризовать. Ну и есть несколько вопросов дискуссионного характера. Одним из посылов настоящей работы разработки TRPA-каналов заключается в возможности потенциального использования этих инструментов для проведения экспериментов *in vivo* на теплокровных животных, в частности на мышах и крысах. Но здесь есть несколько ограничивающих факторов. Ну в частности было несколько работ, сделанных давно, которые показали, что при выполнении мышами и крысами различных когнитивных тестов температура их головного мозга повышается 2 градуса, что превышает порог открытия канала TRPA1, самого горячего, который описан в данной работе. Во-вторых, автором было показано, что для правильной работы TRPA-каналом необходимо их некоторое преинкубирование при более низких температурах, чтобы снять активацию. Нужно их преинкубировать при температурах 35 градусов. Понятно, что при экспериментах *in vivo* это довольно затруднительно. В-третьих, при открытии TRPA-каналов происходит массивный вход кальция внутрь клетки, что может значительно влиять на функционирование нейронов, больше, чем вызывать эффект отличный от эффектов собственной генерации потенциалов действия, от той цели, которой мы хотим добиться от возбуждения клетки. А четвертый момент – это то, что любое изменение приводит к изменению электрофизиологических свойств нейронов, в частности изменению уровня спонтанной активности и тоже были работы, которые детально показывали, как меняется при изменении температуры характеристики работы клетки. Этот канал можно

использовать на хладнокровных животных, что было хорошо продемонстрировано, но вот на теплокровных - здесь будет целый ряд проблем. Вторым вопросом, на который хотелось бы получить ответ - в экспериментах эта картинка была на слайде с одновременной внутриклеточной регистрацией TRPA-экспрессирующих нейронов и оптической регистрацией кальциевых сигналов, непонятно в какой степени регистрируемый кальциевый ответ является следствием входов ионов кальция через TRPA-канал, а в какой через потенциал-зависимый канал, который активируется при генерации потенциала действия. И вот вопрос – проводилось ли сравнение кальциевых ответов, которые вызваны потенциалом действия, который в свою очередь вызван инфракрасной стимуляцией TRPA-каналов или внутриклеточной стимуляцией нейронов. Вышеуказанные замечания не занижают актуальность и значимость проведенной работы и таким образом можно заключить, что по актуальности, новизне, уровню выполнения, научной значимости диссертационная работа Ермаковой Юлии Геннадьевны «Новые онтогенетические технологии активации и визуализации процессов в нейронных сетях» соответствует требованию положения о присуждении ученых степеней, а со всеми поправками и изменениями, а ее автор Ермакова Юлия Геннадьевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «молекулярная биология». Все, спасибо.

Иванов Вадим Тихонович

- Прошу ответить на замечания.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Так, начнем с замечаний. Да, я благодарю оппонента за проделанный труд по анализу моей работы. Замечания касательно природного анионного канала действительно соответствуют истине, я неправильно отнесла его к разделу синтетических опсинов, и эту ошибку мне следовало бы исправить.

В описании TRPA я действительно указала только средние значения, которые касаются только, например, среднего времени деполяризации и входящих ионных токов. А то, что касается статистики, оно естественно вошло в конечную публикацию по этой работе, но количество экспериментов, количество нейронов в экспериментах, оно указано только в разделе методов, то есть там в среднем на эксперимент приходилось от семи до восьми нейронов и от трех до пяти подходов к каждому нейрону. Конечно, такую статистику нельзя назвать большой, даже для электрофизиологических измерений, но к сожалению сжатые временные сроки, в которые производилось исследование, уже накладывают некоторые ограничения.

То, что касается кинетики токов, то на самом деле происхождение этого замечания тоже от части вызвано тем, что времени на то, чтобы домерить все, что нам хотелось бы и постараться отчитаться по графикам, которые получены на эту тематику, тоже, к сожалению, не хватало, поэтому этот эксперимент, к сожалению, пришлось пропустить. То, что касается вопросов: первый вопрос касается применимости более горячего TRPA1 для стимуляции нейрональной активности в теплокровных животных. Я могу сказать, что сейчас мы продолжаем поиск канала, который обладал бы более высоким значением пороговой температуры, так, мы сейчас работаем над каналом из летучей мыши-вампира, которая активируется в среднем при температуре около 40 градусов, а по данным литературы средняя температура мозга мыши составляет около 37,5 градусов, поэтому естественно TRPA1 не будет оптимальным инструментом для стимуляции теплокровных животных. Но пока мы не оставляем возможности получить более горячий с точки зрения порога канал для проведения этих экспериментов. То, что касается предынкубации на 35 градусах, здесь скорее температура 35 градусов пороговая была выбрана просто из условий расчёта клеток, так как у нас есть термостаты, работающие на определенных температурах. То есть в принципе возможна инкубация этого канала при инкубации около 37,5 градусов, но в связи с техническими причинами я инкубировала эти нейроны на 35 градусах. То, что касается замечаний об эффекте всплеска кальция и не будет ли он больше чем эффект от потенциала действия. То, что TRPA пропускают именно катионы кальция можно отнести в некоторых системах к их плюсу, а в некоторых системах к их недостатку. Если мы говорим именно об изменении проводимости каналов, то в этом случае массовый вход кальция в клетку возможно будет иметь негативный эффект, поскольку он влияет на работу клеточных белков, на экспрессию генов, но в данный момент мы также ведем работу по получению натриевых версий TRPA1, которые будут более селективны к катионам натрия, а также хлорные версии этих каналов, которые будут выступать в качестве ингибиторных инструментов, чтобы сделать эффект, который вызывает TRPA более специфическим, то есть в данном случае целью нашей работы было показать, что существует определенный термоканал, он способен активироваться при таких параметрах, мы можем наблюдать как минимум какие-нибудь специфические эффекты его работы в клетках. А в дальнейшем естественно эти инструменты нужно оптимизировать. Ну, собственно, далеко не первые версии родопсинов, несколько отдаленные от природных, являются распространенными объектами в онтогенетике, поэтому я думаю, что инструменты термогенетики, такие как TRPA, еще ждет некоторый путь модификации для того, чтобы сделать их оптимальными. То, что касается изменения частоты базовой активности нейронов при изменении температуры. В данном случае вкладом этого эффекта пришлось пожертвовать для

измерения и определения каких-то первичных характеристик работы каналов в нашей работе, например, в случае работы с Ca-TRPA , можно сказать, что он будет удовлетворять частотную характеристику работы ряда нейронов, для которых его планируется использовать. Так, например, есть данные о том, что частота спайков, возникающих в ряде нейронов в среднем не превышает 60 гц. В принципе, изучая работу TRPA на нейронах мыши мы не считаем эти нейроны конечной моделью, в которой будет применять данный инструмент. То есть здесь он проходит начальную апробацию.

И второй вопрос касается регистрации вклада работы потенциал-зависимых кальциевых каналов относительно вклада в работу собственных кальциевых каналов, в которых мы используем TRPA1. Значит, в этом случае мы не проводили дополнительной оценки, как много кальция входит через потенциал-зависимые каналы и как много кальция входит в TRPA, потому что для этого бы понадобился как минимум дополнительный эксперимент с ингибированием потенциал-зависимых кальциевых каналов.

Поэтому, в данном случае эта кривая является своеобразной суммой работы этих двух каналов, которые измеряются просто кольцевым сенсором. Наверное, это все.

Иванов Вадим Тихонович

- Спасибо, у Вас есть возражения того, что Вы слышали в ответах? Нет. У нас будет общая дискуссия после.

Переходим к отзыву Юрия Валентиновича Панчина, заведующего лабораторией Института проблем передачи информации им А. А. Харкевича РАН

Панчин Юрий Валентинович

(Отзыв положительный. Отзыв прилагается)

- Добрый день, я позволю себе не зачитывать формальный отзыв, вот там все есть. Кто захочет, потом прочитает. В первую очередь я хотел бы поздравить Юлию Геннадьевну и ее руководителей всех уровней с такой потрясающей работой. У меня нет никаких замечаний к ней. Я получил огромное удовольствие чтения и для меня это был еще один важный толчок к тому, чтобы переосмыслить, что происходит с нейробиологией, что я в том числе и нейробиолог, и вот эти работы, которые используют генетически кодируемые сенсоры или каналы, которыми можно управлять работой клеток в мозге, они существенно изменили наше представление о том, что там есть и что нужно делать. Может быть это следствие такого профессионального идиотизма моего, много лет назад мы думали, что все, что происходит в мозге – это электрические потенциалы нейронов, и я с ними работал, в том числе, как и другие. И казалось, что изучить с помощью микроэлектродов можно только очень простые нервные системы. И как быть, когда нервная система большая, хотелось бы знать, как работают все отдельные нейроны.

Казалось, что это невозможно делать и поэтому многие исследователи, в том числе и я, например, занимались простыми нервными системами: моллюсками, трематодами. Теперь ясно, что благодаря таким методикам, в которые соискатель внесла большой вклад, создав новые инструменты, которыми уже пользовались, мы можем в больших мозгах смотреть на уровне одиночных клеток и действовать на одиночные клетки, на одиночные типы клеток, смотреть, что происходит с поведением, как эта штука работает.

Первая вещь - это мощнейшие инструменты, которыми можно изучать большие мозги, сложные мозги, в идеале человеческие может быть даже, но на том уровне, который нам хочется, на уровне индивидуальных клеток или почти индивидуальных клеток.

Второе, тоже что я раньше лично плохо понимал, это то что, мозг это орган, такой же как печень, и у него есть свой метаболизм, и в нем есть все другое, он работает, это не в том смысле, что мозг выделяет мысль как печень желчь, а в том смысле, что он еще должен жить и всякие вещи, ну например, последние работы с изучением сна, с лимфатической системой показывают насколько важен гомеостаз и молекулярные всякие механизмы, неспайковые, нечистые электрические, которые мы привыкли изучать, насколько они важны для понимания работы мозга и вот такими инструментами, как Юлия Геннадьевна предлагает использовать, мы можем это смотреть.

И третья вещь — это то, что... Просто для меня она свежая и раньше мы рассматривали работу нейронов как импульсы на мембране. Например, есть эндоплазматический ретикулум, и его работа состоит в том, что он может выбрасывать или засасывать кальций. Вообще, это можно было назвать, что внутри нейрона есть еще один нейрон, который тоже может работать, потому что вообще достаточно выбрасывания кальция для того чтобы клетка работала, она и медиаторы будет выпускать, и нотаи будет синтезировать, и т. д. Поэтому вот это представление о том, что внутри клетки может работать и другая клетка, необязательно нейрон, но еще и глия. Вот это совершенно новый. Никакими микроэлектронами Вы это сделать не можете и только вот такого типа сенсорами вы можете смотреть, что происходит с биохимией. Например, тот же самый сенсор первый... Значит, некоторые сигнальные молекулы могут образовываться в клетки и могут быть... В общем, я сказал три вещи о том, что мозг - это сложный орган, не только думающий, но и управляющий своим метаболизмом, и эти работы помогают изучать второе, что внутри клетки могут происходить события, которые мы с помощью обычных микроэлектродов, измеряя обычный потенциал, не можем делать. И третье, что конечно для классической нейрофизиологии эти методы тоже очень важны, и я должен зачитать заклинания, которые тут написаны в конце, о том, что, диссертационная работа полностью соответствует требованиям "Положения о присуждении ученых степеней", а ее автор

Ермакова Юлия Геннадьевна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - Молекулярная биология. Спасибо.

Иванов Вадим Тихонович

- Я так понимаю там не было тем для того, чтобы вступать в дискуссии. Ну что же, наша задача упрощается тем самым. Мы имеем возможность перейти к общей дискуссии.

Свердлов Евгений Давидович:

- Я должен сказать, что давно не получал такого удовольствия от слушания научного исследования, как получил сегодня. И я считаю, что конечно Юлия Геннадьевна полностью соответствует всему тому, на что она претендует. А хотел я сказать, при этом пару замечаний, которые никак не относятся к работе, а относятся к используемой терминологии. Вот, хорошо, что пришел Сергей Анатольевич. Это замечание не к Юлии Геннадьевне, а к Сергею Анатольевичу. *(смех)*

Вот, смотрите, что означает синтетическая биология? Я человек, который живу очень давно, занимается проблемами биологии, ну не в своих экспериментальных работах, а значительную часть моего времени научного занимает теоретический анализ проблем, которые существуют в биологии на уровне целого организма. И это большая разница между проблемами, которые существуют в молекулярной биологии или в молекулярной генетике. Когда мы говорим «синтетическая биология», этот термин используется. Он используется, в частности, таким героем-бунтарем, как Крейг Вентер. Он сейчас делает синтетическую биологию, которая заключается в том, что он пытается собрать целый живой организм из составных частей.

Вот это синтетическая биология, и соответственно, я думаю, что это никогда не удастся, по крайней мере сегодня. И что ему удастся, он синтезирует измененный геном в целый геном синтезирует, и вводит его в обезгеномленную клетку. И тогда получается. Но если бы он стал пытаться собрать из липосом каких-нибудь, жирных кислот, аминокислот, то я думаю, что он потерпел бы крах. Вот это синтетическая биология, она вызывает очень много дебатов сегодня, и то, что здесь рассказывалось, это не синтетическая биология. Надо придумать какой-то адекватный термин. Это, повторяю, никак не умаляет замечательности совершенно выдающейся работы.

И второе, это термин генетика. Генетика - это наука о закономерностях наследования признаков, и она сильно отличается от молекулярной генетики. Генетика – это наука, которая работает на уровне целого организма, а молекулярная генетика работает на уровне молекул, которые в этом организме работают. Я бы считал, что более правильно было бы употребить термин «термомолекулярная генетика». Тогда это было бы абсолютно адекватно. Термомолекулярная генетика. Насчет синтетической биологии, какой термин

здесь употребить, думал, не придумал. Но поскольку я имею дело с высокоинтеллектуальными людьми, то я думаю, что они придумают как правильно назвать то с использованием слова «генноинженерия», «трансгеноз», ну что-то в таком духе. Еще раз говорю, что работа абсолютно замечательная, никаких сомнений нет, что она заслуживает присуждения.

Иванов Вадим Тихонович

- Спасибо. Сергей Анатольевич, Вам слово.

Лукьянов Сергей Анатольевич:

- Коллеги, я хотел буквально несколько слов сказать, что сенсор, который создавался у меня на глазах еще, тот НуРег, Всеволодом Вадимовичем Белоусовым. Это был очень тяжелый проект, который длился, по-моему, два или три года. И в общем, с огромным трудом, он родился. И после того как стало понятно, что это можно сделать, мы решили, что сенсоров станет много теперь, и дальнейшие годы они показали, что других сенсоров не получается. На самом деле, некое уникальное стечение обстоятельств, которое до конца не считается никаким компьютером. Вот на картинке все красиво, но не получается. А уж тем более красный. Поэтому, то что, у Юли получился сенсор, это говорит о том, что очень легкая рука. Это здорово, это много лет ни у кого, кто пытался силой эту работу продлить и сделать сенсор, сенсор не получался. А мы очень хотели еще сенсоров. Потом я перестал следить и вот сегодня радостно увидел, что такая удача.

Но хотел также я и "покритиковать" эту лабораторию молодую. Вот я сейчас возглавляю ВУЗ, где принято по нашим стандартам диссертацию слегка там на четыре-пять разделять, чтобы всем хватило, и некоторая инфляция происходит, но ее можно контролировать, как там Центробанк. А здесь имеется дефляция. Зачем две диссертации защищать в одной, непонятно. 7 статей. Каждая часть заканчивается Nature Communication. Обе части великолепны. Всеволод Вадимович, Вам нужно посмотреть, потому что у нас сейчас администрация будет серьезно смотреть на структуру института. И нужны нам такие лаборатории, которые волнуют общественность своими "неадекватными" действиями? А так, работа прекрасная, я хочу всех призвать за нее голосовать. Спасибо.

Белоусов Всеволод Вадимович

- Сергей, ты хочешь разрешить неадекватные действия? Одна диссертация вместо двух?

Лукьянов Сергей Анатольевич

- Да, конечно.

Иванов Вадим Тихонович

- Кто-нибудь хотел бы еще выступить?

Габибов Александр Габибович:

- Знаете, у нас с Сергеем состоялась краткая дискуссия. Я хотел бы сказать, что я знаю эту работу и Всеволода всячески мы поддерживаем. Я хочу сказать, что в период общего плача по поводу грантов и РФФ, Всеволод получил два гранта РФФ. Ну он не один, фактически, а его сотрудники. Это свидетельствует о том, что даже в такие сложные времена нашему институту удалось выйти в плюс, и заслуги лаборатории Всеволода в этом тоже есть, что приятно. Значит, я должен сказать, Сергей Анатольевич, я с Вами в большинстве случаев соглашаюсь, но здесь я не соглашаюсь. Мой отец, нейрохирург, всегда говорил: «Нормы – это серость». Значит, поэтому я считаю, что, если мы не будем... я, как Вы знаете, очень жестко держу по семь-восемь лет, но у нас сложная область, там все, но все равно люди выходят... тоже могли бы с меньшим числом статей. Мне кажется, не надо снижать нам планку, потому что как раз лидерство демонстрирует... Ну, я понимаю... Но в каждой шутке есть доля правды, поэтому все *(смеется)*. Значит, я работу эту знаю и давайте мы будем равняться на лучшее. Потому что все будут понимать, что именно так наши семинары, наши советы, которые сейчас проходят в РАН, они как раз направлены на то... Мы никого не ругаем, мы просто демонстрируем, куда следует двигаться в разных областях, которые Вадим Тихонович, Юрий Анатольевич Овчинников, который сделал полифонию института, и вот мы должны, так сказать, стараться, чтоб все более-менее соответствовало каждой области, каким-то высоким стандартам. Спасибо.

Иванов Вадим Тихонович

- Значит, я призываю голосовать естественно «за»... Я не знаю, Всеволод Вадимович хочет еще сказать. Может он выступать?

Олейников Владимир Александрович

- Может, уже в общей дискуссии.

Белоусов Всеволод Вадимович

- Я коротко. Я очень рад, что Евгений Давидович затронул вопрос про терминологию, потому что я намеренно как бы провоцирую с этой синтетической биологией общественность. Дело в том, что на самом деле этот термин он немножко уже устоялся в западной науке, именно в том смысле, в котором мы его употребляем. Здесь синтетическая как бы... В химическом институте это звучит немножко кощунственно, здесь синтетическая это не термин химии, это термин скорее философский, синтез как объединение. Т. е. мы берем и объединяем разные, разнородные части организмов каких-то в одно, и получаем организмы с новыми свойствами. Это ни в коем случае не имеется в виду... Ну в той же западной науке есть Эйд Боден, который занимается там оптогенетикой, тоже все эти неологизмы. У него вот там в лаборатории синтетическая

нейробиология, это не потому что она синтезирует там какие-то краски, например, или что-то подобное. А именно объединение... Т.е. взяли и из водорослей ген, вставили в нейрон, получили свойство новое. Вот, собственно и все, что я хотел сказать. Конечно, надо работать над тем, чтобы какой-то консенсус достигался по поводу терминологии. Спасибо.

Иванов Вадим Тихонович

- Прошу, прошу. *(смех)*

Свердлов Евгений Давидович

- В этом случае и вообще всегда не надо равняться на западную науку, а надо равняться на здравый смысл и научное представление о предмете. И вот, западная наука очень склонна к рекламности, она делает бизнес, в общем-то очень часто. И термины используются броские, рекламные, как на рекламном щите. И это в общем, значит, что это хорошо, хотя это и западно. Я несколько не отрицаю заслуг западных ученых, они громадны. Но, если посмотреть на труды классиков генетики, классиков биологии, там этого нет. Там Грегго все используют.

Иванов Вадим Тихонович

- Терминологический спор довольно сложная вещь, но мне кажется, что термин синтетическая биология еще не до конца устоялся. Я знаю многих ученых за рубежом, которые понимают синтетическую биологию как применение химического синтеза решения биологических проблем. Т.е. это не совсем то, что было, скажем, сегодня. Мне кажется, еще предстоит этому термину устояться. И Бог с ним. Мне кажется, уникальная диссертация, я призываю к тому, чтобы ее достойно оценили. Прошу. Да?

Ямпольский Илья Викторович

- Я как человек, который использует химический синтез для решения *(смех)* биологических проблем... Мне бы никогда в голову не пришло, что синтетическая биология имеет какое-то отношение к органическому синтезу, поэтому у меня этот термин не вызывает никакого неприятия.

Иванов Вадим Тихонович

- Ну что, кончим, наверное, терминологический спор. Кто-нибудь хотел бы еще выступить? Нет? Тогда я могу дать слово диссертанту, последний шанс вам выступить здесь сегодня. Ну а потом будем заниматься более скучными вещами.

Ермакова Юлия Геннадьевна

- Большое спасибо. Я прежде всего хотела бы поблагодарить сотрудников нашей лаборатории, которые учили меня, помогали мне в моей работе, поблагодарить моего научного руководителя Всеволода Вадимовича Белоусова, потому что сложно быть хорошим аспирантом без хорошего руководителя. И я бы хотела поблагодарить

сотрудников двух коллективов. Это сотрудники лаборатории Павла Милославовича Балабана. Это Рощин Матвей и Никитин Евгений Сергеевич, поскольку в части касательно термогенетики, они фактически проводили измерения касательно электрофизиологии. А также двух присутствующих здесь сотрудников физического факультета МГУ Ломоносова Ланина Александра и Илью Федотова, поскольку без них ни создание систем стимуляции клеток с помощью инфракрасного излучения, ни создание систем регистрации температуры одновременно со стимуляцией было бы невозможно. И сотрудников нашей группы, это Шохину Арину и Богданову Юлию, поскольку коллективная работа, она всегда требует коллективных усилий для того, чтобы она протекала хорошо. Большое спасибо всем, кто присутствовал на защите и выслушал мое выступление, уделил внимание письменным элементам моей работы, нашел в них опечатки и какие-то ошибки. Спасибо большое Вам за ваше внимание. Все.

Иванов Вадим Тихонович

- Нам нужно выбрать счетную комиссию, проголосовать, и еще оценить проект заключения, который нам подготовлен. По традиции, я возьму на себя смелость предложить состав счетной комиссии, подготовленный ученым секретарем, без регалий, имен-отчеств: Уткин, Шахпаронов, Олейников. Традиционный размер, и надеюсь, традиционно нет самоотводов или отводов. Правильно я понимаю? Есть возражения по данному составу счетной комиссии? Не вижу. Считаю ее избранной. И перед тем, как взять перерыв, полезно предварительно опросить членов диссертационного совета, есть ли замечания по поводу проекта заключения, который был нам подготовлен? Традиционно Николай Владимирович дает такие замечания.

Бовин Николай Владимирович

(вносит предложения по исправлению и дополнению некоторых формулировок в заключении).

Иванов Вадим Тихонович

- Мое предложение. Давайте дадим поручение диссертанту и его руководителю учесть то, предлагает сделать Николай Владимирович, и будем голосовать

Объявляю перерыв на голосование. Прошу не расходиться. Прошу голосовать.

(Проводится голосование).

Олейников Владимир Александрович

(докладывает результаты работы счетной комиссии)

- Таким образом, по результатам голосования о присуждении Ермаковой Юлии Геннадьевне степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - молекулярная биология: присутствовало на заседании 23 члена совета, роздано бюллетеней

– 23, в урне оказалось - 23, «за» – 23, «против» – нет, «не действительных» – нет. Решение совета положительное.

Иванов Вадим Тихонович

- Прошу утвердить итоги голосования. Спасибо.

(Проходит голосование по проекту заключения. Заключение принято единогласно)
Ну что, поздравим диссертанта с блестящей защитой.

Председатель
диссертационного совета

Учёный секретарь
диссертационного совета



академик РАН Иванов В.Т.

д.ф.-м.н. Олейников В.А.