



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.019.01
19 июня 2019 года

Защита диссертации **Павлюковым Маратом Самвеловичем** на тему:
«РОЛЬ АПОПТОЗА В ТРАНСФОРМАЦИИ ОПУХОЛЕЙ: НОВЫЕ
ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ ГЛИОМ»,

представленной на соискание учёной степени
доктора биологических наук

Специальность 03.01.03 – Молекулярная биология

Москва – 2019 г.

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 19 июня 2019 года.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

В.Т. Иванов

Учёный секретарь диссертационного совета
Доктор физико-математических наук

В.А. Олейников

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 7.

1. Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2. Член-корр. РАН	Липкин Валерий Михайлович	(03.01.06)
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. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
9. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
10. Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
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.б.н.	Мурашев Аркадий Николаевич	(03.01.06)
16. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
17. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
18. Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
19. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
20. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
21. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Дорогие коллеги, доброе утро. Нет оснований не приступить к работе. Академические 5 минут истекли, кворум налицо. Это у нас сегодня последнее заседание перед летним перерывом нашего учёного совета и вашему вниманию предлагается повестка дня довольно традиционная. Хотя пропорции немножечко не традиционные, но сама повестка традиционная: одна защита докторская диссертация и серия принятий к защите. Серии работ, там утверждение официальных оппонентов, ведущей организации, то есть мы заслушаем сообщения глав комиссий, которые были с согласия учёного совета назначены по каждой из этих работ. Их довольно много, необычно много, то есть осенью нам предстоит серьёзная работа по заслушиванию защит, но это уже осенью. Нет возражений против такой повестки дня? Не вижу, действуем. Итак, защита докторской диссертации Павлюков Марат Самвелович, материалы личного дела, прошу вас.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: Материалы личного дела (*зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что объявление о защите и автореферат диссертации на сайте ВАК размещены вовремя и все необходимые документы в деле есть*).

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Какие-то вопросы, уточнения? Да, есть кажется вопрос.

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Можно узнать кто были те три чеккера, которые представляли диссертацию к защите. Может быть это вообще каждый раз имеет смысл делать вот в этой формальной части.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: То есть вы предлагаете в формальной части упоминать комиссию, которая рекомендовала?

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Да.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Ну я не знаю, есть какие-то формальные требования к личному делу?

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: Михаил Иванович, не помните кто был в комиссии по представлению диссертации вот когда мы её утверждали?

Д.х.н. Шахпаронов Михаил Иванович: Я в это время был в счётной комиссии там.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: А сам Марат?

Соискатель (Павлюков М.С.): А ну вот прошу прощения.

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Деев, Сапожников и Олейников.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: А, да, да, да. Деев, Сапожников и Олейников.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Ответ получен?

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Да, спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Ответ получен. Даём слово диссертанту для доклада, 40 минут.

Соискатель (Павлюков М.С.): *(излагает основные положения диссертационной работы).*

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо за доклад. На мой взгляд построена абсолютно логично, правильно, и даже такая сложная по структуре работа представлена максимально ясно, насколько это возможно. Есть ли вопросы? Сразу много вопросов. Начнём с Сергея Михайловича.

Член-корр. РАН Деев Сергей Михайлович: Спасибо за доклад, скажите пожалуйста вот белок RBM11 о котором вы говорили, вы говорили сегодня о глиобластоме, на сколько на ваш взгляд можно транслировать, полученные вами результаты на другие виды опухолей?

Соискатель (Павлюков М.С.): Большое спасибо! Значит основной результат — это передача сплайсосомных белков, которую мы продемонстрировали и для глиобластомы и для рака яичников, и я думаю, что она справедлива и для других типов опухолей. По поводу белка RBM11 - вообще его экспрессия в норме наблюдается только в мозге и в яичниках. Соответственно я не знаю, экспрессируют ли другие типы опухолей, кроме опухолей мозга этот белок, однако для других типов опухолей, я думаю, что другие факторы сплайсинга будут играть роль. То есть мы выбрали какой-то фактор сплайсинга специфичный для глиобластомы, однако если бы мы изучали какую-то другую опухоль, то просто, я думаю, что какой-то фактор сплайсинга основной был иной, не RBM11, а какой-то ещё. Не, тем не менее, весь этот общий процесс, я думаю, что он довольно универсален для разнообразных типов рака, и более того у нас есть некие основания полагать и мы надеемся это проверить, что этот процесс также может наблюдаться и при нормальном развитии, однако пока это только наша гипотеза к сожалению. Большое спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Николай Владимирович, да, прошу.

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Очень существенная и важная часть вашей работы посвящена поиску и разработке низкомолекулярных веществ, которые ингибируют те процессы апоптоза, которые вы изучаете. А в докладе не прозвучало как вы делали дизайн этих молекул. Я посмотрел естественно реферат и в реферате я тоже это не нашёл. Написано, что в результате компьютерного дизайна были найдены какие-то вещества. Это звучит примерно так как «белок определяли методом Лоури». А по моим представлениям компьютерный дизайн активных молекул — это процесс, который в серьёзных фармацевтических фирмах занимает многие годы для коллективов, которые насчитывают многие десятки людей, на что тратятся миллиарды долларов. Я посмотрел, может быть это есть в диссертации, но в диссертации тоже этого нет. Более того, я не нашёл этого в тех публикациях, которые вы приводите. Повторю, это очень существенная часть вашей работы и никак нигде она не представлена, не описана. Не могли бы вы нам сейчас не спеша рассказать, как и кто это делал, и мы бы всё-таки поняли, как вы пришли к этому выводу.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, пожалуйста. Большое спасибо за вопрос. С удовольствием на это отвечу. Во-первых, в публикациях это есть, но только в дополнительных материалах. Поэтому там действительно это немножко не сразу можно найти. Соответственно, как я уже упоминал в этой работе мы находили какие-то мишени, которые мы считали важными. И после этого наши коллабораторы синтезировали соединения, которые мы уже далее тестировали и выбирали из них самые оптимальные и так далее. Поэтому про эту часть я и не говорил, но тем не менее могу примерно рассказать принцип для каждого из соединений. Для ингибитора NEK2 вначале проводили скрининг библиотеки из то ли 100, то ли 300 низкомолекулярных соединений, и смотрели какие из них могут ингибировать активность этой киназы. Далее с помощью компьютерного дизайна эти соединения модифицировали и предполагали структуру. Далее, синтезировали, если я не ошибаюсь, порядка 5ти аналогов этого соединения, которые уже мы испытывали. И из этих аналогов мы выбрали одно, работающее лучше всего. И вот в частности здесь оказалось соединение СМР3а, которое представляло собой оптический изомер. И вот как раз такое соединение обладало хорошей активностью, а его оптический изомер, если я не ошибаюсь, на два порядка хуже, что кстати очень интересно. Далее, что касается Сурвивина. Здесь история примерно та же самая, но чуть попроще. Здесь ранее было опубликовано соединение, которое по данным ЯМР скрининга способно изменять положение аминокислот на участке димеризации Сурвивина. Далее после этого нашими коллегами был произведён компьютерный дизайн и синтез в данном случае, по-моему, 10 или 15 аналогов, которые мы проверили и выбрали наиболее эффективный. Далее, что касается этого ингибитора, то здесь снова похожая история. Был также ранее, не нами опубликован скрининг низкомолекулярных веществ, природных продуктов, в котором один из продуктов обладал ингибиторной активностью правда не против вот этой ALDH1A3, а вообще против альдегид дегидрогеназ первого типа. Соответственно, также исходное соединение на компьютере как-то модифицировали и получили несколько ингибиторов, которые мы же дальше тестировали. То есть, таким образом в случае ингибитора NEK2 всё начиналось со скрининга библиотеки. В случае Сурвивина всё начиналось с некой структуры, полученной не нами в результате ЯМР скрининга. И в случае альдегид дегидрогеназы ALDH1A3 всё начиналось с результатов скрининга библиотеки природных соединений. И уже потом соответствующего компьютерного дизайна и химического синтеза. Большое спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: У меня вопрос по первой части вашей работы. Да потом продолжение вопроса. Вы изучали 4 белковых ингибитора апоптоза, правильно? Как отбирались эти 4 объекта? Это что, основное что известно в литературе по поводу ингибирования апоптоза? Либо их десятки кандидатов и вы на угад выбрали 4 и 4 посмотрели, а остальные остались не изученными. Какая ситуация?

Соискатель (Павлюков М.С.): Да.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Полнота покрытия проблемы.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, разумеется ингибиторов апоптоза очень много, их как минимум десятки и даже возможно и сотни. Соответственно выбирали мы следующим образом. Во-первых, мы специфически изучали митохондриальный путь апоптоза. То есть все эти ингибиторы они именно митохондриального пути апоптоза, а про внешний путь апоптоза я сейчас вообще не говорил. И на самом деле я говорил про Морталин, но мы начали с белка АIF, который является не ингибитором, а индуктором апоптоза, и который по некоторым данным является фактически самым ранним событием апоптоза. И далее мы уже сами впервые определили белок Морталин как взаимодействующий, с этим белком. Соответственно, белок Сурвивин уже была большая история по изучению этого белка в нашем институте, и мы её как бы только продолжили. Ну и дальше Трансглутаминаза 2 тоже очень интересный белок, потому что это единственный ингибитор самой последней стадии апоптоза, потому что считалось, что после активации каспазы 3 уже как бы клетка опухолевая, или вообще любая клетка будет обречена на смерть, потому что это идёт уже разрушение клеточных и так далее. Однако, и по нашим наблюдениям, и по литературным данным это всё-таки не совсем, так и вот Трансглутаминаза 2 была показана как единственный белок, ну по крайней мере не тот момент, сейчас вероятно уже какие-то другие известны, способной ингибировать уже активную каспазу 3. И вот нам тоже стало интересно это исследовать, потому что всё это тот же митохондриальный путь апоптоза. Но в целом, ответ на ваш вопрос можно кратко сформулировать, что мы специфически интересовались митохондриальным путём апоптоза и смотрели белки, которые так или иначе связаны друг с другом через каких-то посредников. Конечно, разумеется мы не могли взять все белки, потому что их очень много, и поэтому взяли те, которые показались нам особенно интересными. Большое спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Николай Владимирович, у вас было продолжение вопроса?

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Нет, у меня другой вопрос. Про изучение конформации белка в *in vivo*. Вы берёте относительно небольшой белок, делаете его аналог, где на С-конце у него один флуоресцентный белок присоединяется, на другом конце второй флуоресцентный белок и смотрите FRET, правильно?

Соискатель (Павлюков М.С.): Ну не совсем, потому что белок на самом деле довольно большой, там 90 кДа.

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Ну не миллион. То есть белок, который вы метите, он сравним по размерам с меткой. То есть меточка это не флуорисцеин.

Соискатель (Павлюков М.С.): Ну да.

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: И вы делаете выводы об изменении конформационной подвижности этого белка в такой жуткой химере. Объясните пожалуйста логику, вашу логику доказательную. Того, что на самом деле с нативным белком вы видите тоже самое изменение конформации. По моим представлениям есть

высокая вероятность того, что вы наблюдаете артефакт из-за того, что вы сделали из одного белка совершенно другой, абсолютно не похожий на исходный.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, большое спасибо за вопрос. Значит здесь я просто эту часть сознательно упустил, в целях экономии времени. Но тем не менее разумеется мы проверяли, что этот метод действительно работает. Так, например, известно по литературе, по многим другим экспериментам, что как бы самым главным, но не единственным, хочу заметить, активатором Трансглутаминазы 2 является кальций. И соответственно способ активировать этот белок — это повысить в клетках концентрацию кальция. И соответственно это мы и делали, добавляя к клеткам кальциевый ионофор, и мы видели, что активация этого фермента в тех условиях, в которых она должна происходить, она действительно происходит. Кроме того, мы также использовали и другие методы, не связанные с FRET, например, это инкорпорирование биотин-кадаверина в клеточные белки. То есть, трансглутаминаза она сшивает клеточные белки с другими белками, но если мы добавим биотин-кадаверин, то тогда соответственно будет биотин-кадаверин инкорпорироваться. И мы показали, не зависимо от FRET методом, что действительно то, что мы видим на FRET, то и совпадает с этим биотин-кадаверином. Но у этого метода очевидный недостаток, это, во-первых, не слишком высокая специфичность, потому что с биотин кадаверином могут каким-то образом взаимодействовать разнообразные белки, и второе, это разумеется то, что это возможно только на фиксированных клетках. То есть мы в данном случае старались верифицировать нашу систему, во-первых, просто сравнивая с литературными данными, когда известно, что этот белок активируется, а, во-вторых, вот с этим методом по встраиванию биотин-кадаверина, который к FRET не имеет никакого отношения, однако позволяет тоже определить активность этого фермента. Большое спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо вам. Есть ли ещё вопросы? Да, прошу.

Д.м.н. Штиль Александр Альбертович: Спасибо. Ещё вопрос. В экспериментах с экзосомами, когда кривые расходятся к 15ому дню, они действительно столь стабильны? Что ещё кроме белков сплайсинга в них входит?

Соискатель (Павлюков М.С.): Вот этот вот?

Д.м.н. Штиль Александр Альбертович: Да. Действительно ли они столь стабильны, и что определяет их содержание?

Соискатель (Павлюков М.С.): Что-то? Я просто плохо расслышал?

Д.м.н. Штиль Александр Альбертович: Что в этих белках, экзосомах кроме белков сплайсинга действует. Что делает их стабильными? У вас эффект очень долговременный.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, большое спасибо. Значит здесь, как бы, на мой взгляд, два таких немножко отдельных вопроса. Во-первых, что делает эффект стабильным? Здесь, я думаю, дело в том, что клетка, в которой мы ингибируем сплайсосомы, она в принципе не может нормально делать новые белки. Соответственно, если мы добавляем

экзогенные сплайсосомы, то клетка получает возможность делать новые белки, в том числе новые сплайсосомные белки. И таким образом тут главное начать, и дальше уже сама клетка может восстановиться. И второй вопрос – что содержат везикулы? Это очень важный вопрос, потому что конечно же я ни в коем случае не утверждаю, что везикулы содержат только сплайсосомные белки. Разумеется, эти везикулы содержат большое количество очень важных компонентов, в том числе миРНК и самые разнообразные другие белки, которые также безусловно влияют существенно на клетки. И, таким образом, я думаю, что в итоге мы видим разумеется эффект не только от сплайсосом, но некий суммарный эффект от всего, что содержится в этих везикулах. Но эта работа о том, что, наша работа о том, что сплайсосомы, содержащиеся в везикулах, они тоже важны и вносят существенный, хотя разумеется не единственный, вклад в эффект везикул. Большое спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Хотите продолжить вопрос? Ну давайте.

Д.м.н. Штиль Александр Альбертович: Что вы называете стволовыми клетками глиобластомы? Это конкретная субпопуляция с определённым фенотипом, или свойством стволовости обладают клетки в опухоли и другие? И случайные всякий раз.

Соискатель (Павлюков М.С.): Большое спасибо. Вот это как бы очень тоже интересный вопрос, и ему посвящено очень большое количество статей с разнообразными мнениями. Конкретно в этой работе мы использовали такую наиболее часто описываемую гипотезу, о том, что стволовые клетки — это клетки, содержащие маркер CD133, в которых отсутствует маркер GFAP, или которые содержат высокую активность вот этой вот альдегид дегидрогеназы и тоже в которых отсутствует GFAP. Однако, вопрос безусловно тут спорный и исследуется уже много лет разнообразными учёными, и есть мнение что это может быть неоптимальная методика выделения стволовых клеток, но однако вот это то, что сейчас есть в литературе, то что так сказать более ли менее общепризнанно, хотя конечно есть и публикации в которых используются какие-то другие маркеры, но скажем так, эти маркеры используются в наибольшем числе публикаций. И из всех маркеров эти используются чаще всего. Хотя я не говорю, что это 100% правильно. Ну и ещё хотелось бы добавить, что, соответственно, существует методика по выращиванию культур, обогащённых стволовыми клетками глиобластомы. Эта методика уже более ли менее вопросов не вызывает и, соответственно, можно сравнивать обычную культуры, в которых стволовых клеток глиобластомы порядка меньше 1%, и культуры, так сказать, обогащённые стволовыми клетками глиобластомы, в которых этих клеток 30-50%. Ну как считается опять же. Большое спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Понятно. Есть ли ещё? Да, Александр Габирович.

Академик РАН Габиров Александр Габирович: Марат Самвелович, спасибо большое за доклад и такие обширные ответы. Вот я бы хотел, чтобы вы обратили наше внимание на ваши выводы. Мой вопрос будет в основном сконцентрирован на выводе 6. Где вы так же,

как уже вопрошавший до меня, концентрируете наше внимание на исследовании функций белка RBM11. Вы приписываете ему функцию индуктора сплайсинга. Правда же, да?

Соискатель (Павлюков М.С.): А, ну это не совсем мы. Как раз то, что он регулирует сплайсинг было показано в литературе.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Значительная часть вашей диссертации нанизана идеологически на роль этого белка и на возможность транспорта этого белка в этих везикулах. Правильно?

Соискатель (Павлюков М.С.): Да.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Ну мои вопросы для вас не удивительны, потому что я их задаю вам обычно на всех семинарах, где вы выступаете. Значит, когда речь идёт, я не критикую вас, но когда речь идёт об исследовании функций белка, вы действительно показали, что нокдаун этого белка с помощью siRNA, вы делали, да?

Соискатель (Павлюков М.С.): Ну только shRNA.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: shRNA, тем лучше. Он в общем имеет некоторые отрицательные эффекты, с этим можно спорить об их величии, но, так сказать, значении их количественном, но тем не менее, определённым образом вы утверждаете. Но когда вы всё-таки выносите этот вывод как основной, и говорите о функции белка, меня интересует всё-таки какие-то фрагменты, делали ли вы сайт направленный мутагенез? Или хотя бы какие-то доменные структуры этого белка смотрели в ваших везикулах. Тем более *in vitro* часть диссертации вы ей всегда уделяете довольно большое внимание, она у вас разработана. Вот как вы всё-таки, раз вы этот вывод сделали отдельно по белку, как вы видите его? Только позвольте ответить предельно кратко.

Соискатель (Павлюков М.С.): Вот соответственно домены мы не смотрели, потому что это было исследовано в литературе, то есть в принципе известно, какой домен регулирует сплайсинг, известна его димеризация, и основное что мы сделали, что небыло опубликовано ранее, это установили сплайсинг каких именно РНК регулирует этот белок. Потому что в литературе известно, что вот есть домен, вот есть аминокислоты и с помощью этого домена он может связываться с какими-то молекулами РНК. Но с какими было в основном не понятно, и мы вот как раз исследовали в частности этот процесс и показали. Что касается мутагенеза и всего остального, то мы не делали, во-первых, потому что, эта часть частично уже была сделана до нас, ну и во-вторых, потому что решили фокусироваться именно на в первую очередь изучении того, что.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Вот не хочу, понятно, что вы сделали, но поскольку вы этот вывод выводите как вывод, и у вас были подсказки ваших коллег и других международных представителей научного сообщества, занимающихся этим белком. Значит, то вам, наверное, поскольку у вас нанизана значительная часть вашей работы на этот белок, и вы всё-таки впервые мне кажется, или вы сейчас меня

опровергните, связываете его с изменением метастазирования благодаря везикулярному транспорту.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, это впервые.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Впервые, тем более. Вот я и спрашиваю, если вы знали, какие части этого белка определяют его функцию из литературы, то мне кажется, такой функциональный контроль для доказательства вашей концепции был бы просто здесь необходим.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, вы правы, действительно, но к сожалению, вот.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: И второе. Опять покажите нам выводы. Только я очень вашу диссертацию люблю, спасибо вы замечательный исследователь, но всё-таки наука требует. Здесь вот как у вас записан везикулярный транспорт. Здесь вопрос профессора Штиля, я не хотел его задавать, но он меня инициировал. Дело в том, что действительно везикулы — это достаточно, это же не синтетическая вещь, вот открытая часть, которая существует *in vivo* и им приписывается очень большая сейчас роль в метастазировании и прочее. Я согласен с частью этих работ, хотя это не является единственной моделью в дисциплине. Так вот, всё-таки ваши выводы, что этот сплайсинговый белок индуцирующий является основой, для активного начала, как говорили в древности, он меня, он не выглядит для меня убедительным, особенно в отсутствии тех опытов, о которых я говорил. То есть это я бы сказал предположение. Если вы ещё покажите схему гипотетическую, которую, чтоб всем было ясно, я сразу предупреждаю, что я положительно буду голосовать. Которую вы здесь выдвигаете. Можете нам описать те стадии, этой схемы, которые вы всё-таки ставите как гипотетические, и те, которые в результате выполнения сугубо экспериментальных работ вашей диссертации, считаете доказанными. Вот можно затратить 2-3 минуты на это.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, конечно, с удовольствием. Значит, во-первых, первая стадия, это перемещение белка..., во-первых, увеличение экспрессии RBM11 при индукции апоптоза. Это мы показали на основании данных микрочипов и РНК секвенирования. Далее, перемещение белка RBM11 из ядра в цитоплазму мы тоже показали, я просто эти слайды, эти данные не приводил.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Это сразу да, это вы показали с помощью флуоресцентного мечения. Транспорт.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: И здесь все что говорил Николай Владимирович это имеет определённый смысл.

Соискатель (Павлюков М.С.): Нет, ещё для эндогенного тоже показали.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Показали, да.

Соискатель (Павлюков М.С.): Но для эндогенного перемещение из ядра в цитоплазму не показали, потому что там антитела плохие, к сожалению, не получается.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Ну вот да, вот у вас большая работа, поэтому всегда есть какие-то.

Соискатель (Павлюков М.С.): Далее экспорт везикул и захват этих везикул показали тоже, во-первых, для.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Значит вот эта вот стадия, везикулы со сплайсосомными белками, здесь речь идёт о вот этом RBM11. Да, вот красненькие крестики.

Соискатель (Павлюков М.С.): Ну это не только, это как бы большое количество разнообразных белков.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: У вас экспериментально, у вас же работа экспериментальная, не теоретическая биология. Значит это вы доказали теми опытами, которые вы нам представили. Этот весь кусок по RBM11, да?

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, но ещё я не показывал различные блоты, например, которыми мы показывали, что вот мы добавляем везикулы к клеткам, количество RBM11 увеличивается.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: То есть транспорт он не имеет большого значения?

Соискатель (Павлюков М.С.): Ну как бы, что везикулы доставляют белок.

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Хорошо, выживаемость опухолевой клетки вы показали.

Соискатель (Павлюков М.С.): Ну и далее изменение сплайсинга...

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Вот захват фактора как вы показали? Значит у вас радиоактивные там клетки на чём-то выращивали?

Соискатель (Павлюков М.С.): Нет, нет, нет. Радиоактивные клетки — это вообще. А захват — вот здесь, когда мы соответственно добавляли везикулы, содержащие GFP-RBM11 к не меченым клеткам. Вот здесь хочется сказать, что у нас разумеется было большое количество контролей, что чтобы убедиться, что здесь именно белок, а не РНК, потому что в принципе понятно, что теоретически везикулы могут переносить РНК, и потом уже эта РНК начнёт превращаться в белок уже в клетках. Соответственно, здесь у нас был в частности контроль, когда мы собирали везикулы от GFP, опять же это всё есть, просто не включил в эту презентацию, от GFP меченных клеток, и если мы добавляем везикулы от GFP меченных клеток, то в контрольных клетках, особо, ну почти ничего, светится не начинает, ну там по крайней мере на порядок, а то и на два слабее. То есть соответственно, если бы переносилась матричная РНК, то логично предположить, что для GFP она переносилась бы также, как и для RBM11, и более того, что GFP на самом деле экспрессируется на гораздо более...

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Вот самым лучшим контролем, я вас прерву, здесь бы был испорченный RVM11. Я остаюсь на своей позиции.

Соискатель (Павлюков М.С.): Ну в общем то вы правы. Вот, единственное, что здесь вот в данном...

Академик РАН Габибов Александр Габибович: Всё, спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Продолжаем вопросы. Есть таковые, или они иссякли? Последнее верно. Спасибо, Марат Самвелович, можете немножко отдохнуть пока. Переходим к заслушиванию отзывов. Начинаем с отзыва ведущей организации.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: *(Оглашает отзыв ведущей организации. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Ведущая организация — это федеральное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН и подписано доктором биологических наук, профессором Малышевым. Отзыв ведущей организации положительный полностью, вот что пишется: В последние десятилетия большое внимание уделяется изучению механизмов апоптоза, является важной задачей это, тесно связанной с современной медициной. Работа данная посвящена исследованию молекулярных механизмов апоптоза, изучению роли апоптоза в межклеточной коммуникации, созданию новых низкомолекулярных соединений, убивающих наиболее агрессивные популяции клеток глиобластомы *in vitro* и *in vivo*. Структура работы, ну это стандартно. Введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты. Работа изложена на 219 страницах, включает 110 рисунков, три таблицы, список литературы 216 источников. Обзор литературы 52 страницы, написан хорошо и подробно, диссертантом описывается современное состояние проблемы, современные данные о механизмах регуляции апоптоза. Материалы и методы: использован целый ряд современных методов, подробно описано на 46 страницах в разделе методы. Результаты и обсуждения - автор подробно излагает результаты своих исследований и даёт их детальный анализ. Многочисленные результаты изложены корректно с использованием таблиц и графиков, что облегчает их понимание. Достоверность и научная новизна полученных результатов сомнений не вызывает. Обсуждение результатов построено логично, в первой части работы автор получил новые данные о механизмах функционирования индивидуальных белков регуляторов апоптоза. Наиболее интересные данные получены для белка Сурвивин. Автор с коллегами исследует роль мономера этого белка и впервые предположили новый механизм переключения между различными функциями Сурвивина в клетке, основанный на смещении равновесия мономер-димер. Во второй части работы впервые продемонстрировано, что сплайсосомные белки могут быть экспортированы из клетки. По сути автор и коллеги предположили принципиально новый механизм межклеточной коммуникации, осуществляемый с помощью транспорта сплайсосомных белков, заключённых в везикулы. в третьей части, были созданы и протестированы на модельных животных три новых противоопухолевых препарата, вызывающих гибель наиболее

агрессивных стволовых и мезенхимальных клеток глиобластомы. И в четвёртой части работы были продемонстрированы уникальные возможности метода TOF-SIMS масс-спектрометрии для анализа отдельных клеток и опухолевой ткани. Новизна подтверждается публикациями данных в журналах очень хороших, практическая ценность высока. И замечания, и вопросы по работе: Первое – ни в автореферате, ни в тексте диссертации нет отдельно выделенных положений, выносимых на защиту, хотя не явно они присутствуют в тексте. Хотелось бы во время защиты услышать такие положения и обсуждения их новизны для всех областей. Второе - структурно диссертация построена хотя и со всеми необходимыми разделами, но по сути обзор литературы несколько чужероден основному тексту, так как анализ существующих данных по теме не заканчивается необходимостью конкретного исследования в конкретной части работы. Третье - несколько сбивает с понимания работы использование термина «эволюция опухоли». Так как в общебиологической литературе в 90% случаев употребляют это словосочетание как роль опухолей в эволюции организмов. По сути понятно о чём идёт речь, это стадия развития опухоли, но по факту это жаргонизм, применяемый в данной области. Однако, сделанные замечания не снижают высокой оценки работы и в целом скорее носят характер советов на будущее. Ну автореферат соответствует, и заключение. Представленная диссертационная работа Павлюкова Марат Самвеловича на тему «Роль апоптоза в трансформации опухолей – новые подходы к терапии глиом» является законченным научным трудом, имеющим большое научно-теоретическое значение и полностью соответствует положениям о порядке присуждения учёных степеней, и сам диссертант заслуживает учёной степени доктора биологических наук по специальности молекулярная биология. Отзыв обсуждён и одобрен на заседании лаборатории клеточной нейробиологии, и составлен он доктором биологических наук, главным научным сотрудником, руководителем лаборатории клеточной нейробиологии обучения, членом корреспондентом РАН Балабаном. Ну и как я уже сказал утверждён директором этого учреждения- Малышевым.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо, в отзыве было одно пожелание, на счёт того, какую бы хотелось иметь дискуссию, это по-видимому впереди, и серия замечаний. Желает диссертант ответить на замечания?

Соискатель (Павлюков М.С.): Да.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Давайте.

Соискатель (Павлюков М.С.): Вот значит да, по поводу замечаний, как бы, начну с того, что апоптоз в эволюции опухолей, ну наверно стоило с одной стороны это назвать как-то по другому конечно, но, с другой стороны, именно в особенности глиобластом считается что вот эта опухоль, которая действительно изменяется и можно сказать, что этот термин частенько используется в статьях про глиобластому. То есть как-то эволюционирует во времени. Возникает из клеток предшественников, потом пронейрональные клетки, мезенхимальные клетки. И поэтому хотелось в этой работе подчеркнуть вот именно этот момент, что апоптоз он важен именно для того, чтобы

опухоль могла изменяться с течением времени и приспосабливаться к терапии и становится более агрессивной. Что естественно для пациента плохо. Но возможно действительно стоило несколько как-то иначе это назвать. Значит по поводу литобзора - ну как бы, я старался писать, что бы он максимально подходил к работе, но наверно стоило всё-таки в конце сформулировать более задачи чётко. Хотя в принципе у меня заканчивается именно обсуждением влияния сигналов, продуцируемых апоптотическими клетками. По этому статей совсем не много, и, понятно, что необходимы дальнейшие исследования. Какие я ещё замечания пропустил?

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: Так, насчёт обзора литературы вы сказали. Так, ни в автореферате, ни в тексте нет отдельно выделенных положений, выносимых на защиту.

Соискатель (Павлюков М.С.): Вот собственно я так понял просто, что у нас в институте отдельно их не делают, то есть я знаю, что в некоторых работах они присутствуют, а в некоторых работах отсутствуют. Соответственно я не писал, посмотрев на другие защиты, которые проходили у нас в институте. Соответственно, вот после этого замечания написал, вот если это интересно. Это как бы некая модификация что ли выводов, соответственно здесь первые три это про белки, четвертое это про то, что наш метод действительно позволяет оценивать конформацию белка трансглутаминаза 2, и далее уже идёт по поводу апоптоза, то есть о том, что раковые клетки секретируют во внеклеточную среду сплайсосомы. Что эндогенные сплайсосомные белки способны вызывают мезенхимальную трансформацию. Про белок RBM11, что он способен поддерживать и сохранять, и индуцировать мезенхимальный фенотип, что он регулирует сплайсинг MDM4 и Циклина D1, ну и далее соединения, и про то, что этот метод модифицированный или разработанный нами, не знаю как правильно сказать, действительно позволяет детектировать распределение белков и низкомолекулярных молекул. То есть вот как бы если бы положения на защиту были, то мне кажется они бы могли бы выглядеть вот примерно как-то таким образом. Вот, ну вроде я ответил.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Ну спасибо. Двигаемся дальше. Дальше отзывы на автореферат, которые кажется есть.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: *(Оглашает отзывы на автореферат. Все отзывы положительные. Отзывы прилагаются.)* Да, в диссертационный совет поступило 4 отзыва. Все 4 отзыва положительные, но в двух из них есть замечания. И, во-первых, значит отзыв первый. Ну характерно – материалы диссертации были. Марат Самвелович получил новые данные о механизмах функционирования белков-регуляторов апоптоза, ну и так далее, такие хвалебные слова, значит первый отзыв подписан доктор биологических наук профессор, зав. кафедрой Ольга Вячеславовна Карпова и кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, вирусолог Евтушенко. Это кафедра вирусологии, биофак МГУ. Далее отзыв на автореферат, ну тоже интересно, впервые показали, ну и так далее, есть такие вот слова. И соответственно подписано, член корреспондент Российской академии наук, доктор

биологических наук, Лагарькова Мария Андреевна. Это заведующая лабораторией клеточной биологии ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины. Далее отзыв тоже положительный, значит ну тут недостатки. К недостатком автореферата можно отнести излишне краткое описание некоторых ключевых экспериментов, а также неудачные формулировки и опечатки, встречающиеся в тексте работы. Подписан Федеральное государственное автономное учреждение, национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Бурденко. Подписано директором, академиком РАН Потаповым. И, наконец, последнее, четвёртый отзыв на автореферат. Вот пишет: К недостаткам автореферата можно отнести стилистические погрешности. В работе исследована глиобластома, а в тексте встречается понятие рак, правильно злокачественная опухоль. Имеются неудачные выражения «клетка защищает себя», «некротическая зона, содержащая апоптотирующие клетки», «убивать клетки» и другие. В выводах можно избежать формулировки «исследованы», «предположен механизм». В работе получены принципиально новые уникальные результаты и их следует убедительно выразить. Правомерно ли утверждать, что созданы препараты? Представляется, что выявлены кандидаты. Предстоит долгий путь к созданию действительно новых оригинальных препаратов, на основе открытий автора. Эту проблему было бы полезно обсудить. Подписано – зав. лабораторией механизмов гибели опухолевых клеток, федерального государственного бюджетного учреждения национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Блохина. И подписано Александром Альбертовичем Штилем, доктор медицинских наук.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Я предлагаю согласится с опечатками, краткостью и какими-то стилистическими коррекциями. Согласны?

Соискатель (Павлюков М.С.): Да.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Давайте не будем время терять тогда. Очевидные вещи. Переходим к заслушиванию отзывов официальных оппонентов. член корреспондент Купраш Дмитрий Владимирович. Есть он?

Официальный оппонент, член-корр. РАН Купраш Дмитрий Владимирович: *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Да. Добрый день уважаемые коллеги. Я с большим интересом прочитал диссертацию. Не могу положить руку на сердце сказать, что я её изучил, потому что она действительно очень большая и сложная, то есть моя первая реакция, когда меня попросили оппонировать, была отказаться, потому что я пролистал и понял, что мне нужно на пару недель бросить работу или попросить сотрудников на несколько дней это сделать. И может быть автору надо ещё немножко поработать, подумал я. Потому что было очевидно по датам публикаций что диссертант очень молодой и видно, что много где ещё можно было бы довести и доделать, как здесь говорились. Но вот доклад меня убедил, что вот исследователь совершенно зрелый, он прекрасно владеет материалом, он знает детали, литературу, концепции, по-моему, я забегаю вперёд, но, по-моему, мы слышали выступление скороспелого, но уже зрелого будущего доктора наук. Значит работа замечательная, и, опять же забегаю вперёд,

все недостатки, по-моему, хорошо перекрываются списком публикаций, которые действительно шикарные. То есть видно, что сделано очень много. Самостоятельно сделано в международных коллаборациях с серьёзными коллегами. Вот эти все звёздочки о равном вкладе они именно означают большие сложные междисциплинарные работы, которые действительно продвигают вперёд и позволяют открывать новые вещи. Это всё замечательно. Можно я дословно не буду зачитывать? Остановлюсь на ярких моментах каких-то. Литературный обзор мне на самом деле понравился. По нему есть пара замечаний, но мне не показалось, что он как-то не подводит к задачам исследования. Очень порадовали материалы и методы, которые всё равно недостаточно подробны местами, но просто из-за своего колоссального объёма. И украшением является сделанная по современным стандартам таблица со всеми использованными реагентами, как сейчас в Nature Publishing требуют прямо к статьям прикладывать. Так сделана диссертация, на много страниц со всеми реагентами, которые использовались, с каталожными номерами и с источниками, откуда их можно брать. И опять же такое безумное количество работы проведено, что и эта таблица не полная. То есть, например, последовательности праймеров в работе не приведены. Это одно из мелких замечаний. Тем не менее всё это очень хорошо, но пересказывать структуру и логику диссертации мне кажется нет смысла, потому что Марат Самвелович очень хорошо сам это всё изложил. Поэтому я позволю себе перейти к замечаниям. По обзору литературы такое терминологическое замечание у меня, что термин компенсаторная пролиферация, я не слишком был с ним знаком, почитал литературу и у меня сложилось впечатление, что о нём говорят более в узком смысле, когда речь идёт именно о регенерации здоровой ткани в нормальном процессе. А вот о пролиферативных сигналах, индуцируемых апоптозом, вроде бы стараются это отличать. Но может быть это какое-то частное мнение, интересно будет услышать, что автор по этому поводу думает. Мелкие замечания по обзору литературы, что рисунок 31 имеет недостаточно высокое разрешение, там не очень понятно, глядя на него, о чём именно говорится в тексте. Имеются некоторые текстуальные недочёты и в обзоре и дальше, но не настолько критические, чтобы мешать наслаждаться работой. Список материалов всех кстати приведён на английском языке, а при этом некоторые из них в тексте называются по-русски. У специалистов это проблем не вызывает, потому что понятно о чём идёт речь, но формально некий мелкий недочёт. Про сиквенсы нуклеотидов я уже сказал. По результатам и обсуждению несколько замечаний тоже есть. В главе 4.1.2., которая посвящена ингибиторам капаз-зависимого апоптоза, я не нашёл какая там использовалась линия клеток и была ли она одна или их было несколько. Дальше, про Сурвивин, вопрос, что можно сказать о пост трансляционных модификациях его мутантных вариантов. Может быть такое, что мутации, которые там использовались, могли повлиять на эффективность ацетилирования и таким образом эффект мутации был бы не прямой, а тоже через какое-то изменение конформации белка. В некоторых других местах тоже есть недостаток информации о том, какие клетки использовались. На рисунке 48 там где результаты по локализации PON2, они показаны в нескольких клеточных линиях, а на следующем рисунке 49 только в одной и не сказано в какой. То есть в принципе было бы хорошо, вообще хороший тон, просто в подписях к рисункам такие вещи указывать,

чтобы не разыскивать это дело по тексту. В некоторых других рисунках тоже не хватило внимания к деталям. Ну создаётся впечатление что просто из-за огромного объёма данных просто не хватило сил всё вылизать. На рисунке 43 на панели А трудно понять, какая полоса является специфической, так он подписан. На панели Б имеется 5 кривых, а легенда обозначает только 3. На рисунке 59, если посмотреть до того, как читать описание, то в первую очередь бросается в глаза категория белков, которые обозначены как «взаимодействие организмов». Этими белками обогащены контрольные везикулы, в отличие от тех везикул, которые выделяют погибающие клетки глиобластомы. Это наблюдение и обозначено с опечаткой и нигде не обсуждается. Дальше вот мне как иммунологу было заметно, что было использовано две линии иммунодефицитных мышей для ксенографтов, NOD/SCID и голые мыши. И в описании конкретных экспериментов нигде не написано, какие именно. Только в материалах и методах через запятую написано, что были и такие и такие, в принципе как бы и те и другие иммунодефицитные, но вообще говоря это разные модели, которые могут по-разному иногда на ксенографты реагировать. Ну и в одном из отзывов тоже прозвучало замечание, с которым я согласен, что ингибиторы Сурвивина, киназы NEK2 и вот этой альдегид дегидрогеназы первого класса, которые были получены преждевременно называть противоопухолевыми препаратами, это или базовые соединения, или кандидаты или что-то такое, которое нужно дальше доводить до ума. И по ходу прослушивания доклада у меня возникло ещё примерно три вопроса, которые я упустил при написании отзыва. Значит первый вопрос, по эксперименту на животных с ингибитором Сурвивина, там если я правильно успел уловить, группа которую лечили вообще выжила, то есть эффект очень яркий. Вопрос сколько там было мышей и насколько это воспроизводимый результат. Второе такое тоже забавное замечание, что данные по анализу, что биоинформатический анализ экспрессии белков, как бы с которого идеологически начинается вообще работы. Поиск, это звучало в одном из вопросов, поиск того что же исследовать, и это было буквально на первом слайде, опубликовано в статьях 2018 года. Вот вопрос- это артефакт российской грантовой системы или в этом есть какая-то логика исследования. То есть это старый результат, который просто достали и вытащили, или здесь какая-то кроется интрига? И последний даже вопрос, не вопрос, может быть даже это не моё дело, но для такой супер насыщенной биохимией, молекулярной биологией и клеточной биологией работы, кажется странным выбор ведущей организации. Казалось бы, нужно какой-то, вот вместо того чтобы оппонента сажать в свою лабораторию за изучения работы было бы разумно получить какому-то более профильному институту. Но опять же это артефакт того, что сейчас все аффилировано и никого не найдёшь, или была ли в этом какая-то рациональная логика. Но повторяю, что все эти недочёты, вопросы полностью перекрываются достоинствами работы диссертанта и я, безусловно, оцениваю её максимально хорошо и я считаю, что Марат Самвелович заслуживает искомой степени и призываю всех голосовать за. Спасибо!

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Но тем не менее там были замечания, на которые хотелось бы услышать ответы.

Соискатель (Павлюков М.С.): Большое спасибо за замечательный отзыв. Я сейчас постараюсь ответить на все вопросы, но если вдруг я какие-то пропущу, то вы пожалуйста мне напомните. Но постараюсь на всё сразу ответить, надеюсь я запомнил. Значит, во-первых, по поводу обзора литературы: собственно, термин компенсаторная пролиферация действительно чаще встречается в описании нормальных тканей. Но на мой взгляд, дело связано с тем, что этот вопрос вообще гораздо больше изучен в плане нормальных тканей. То есть, например, про эффект от гибели клеток на восстановление тканей там статей, я думаю, несколько десятков, возможно даже сотня, в то время как таких нормальных статей по исследованию опухолевых клеток их там ну 5 от силы. Соответственно, по-моему, в двух из них или в трёх, в двух, по-моему, термин компенсаторная пролиферация употребляется, соответственно, мне показалось, что вполне разумно его употребить в данной работе, потому что он, ну на мой взгляд, лучше описывает этот процесс, чем термины, предлагаемые в других работах, тем более что работ не много, и этот термин фигурировал сразу в нескольких из них. Хотя конечно, совершенно справедливо, что гораздо чаще он используется в описании восстановления тканей после повреждения. Дальше вот большое спасибо за хороший комментарий по поводу таблицы, я её очень долго делал. И последовательность праймеров я просто в какой-то момент решил туда не включать, потому что праймеров там использовали, я их как-то посчитал, больше 300 штук и я подумал, что вот такое вот немыслимое количество вот этих вот букв, которые бы заняли несколько страниц может вызвать раздражение людей. Дальше, вопрос по поводу противоопухолевых препаратов и потенциальных противоопухолевых препаратов. Да, я тут полностью согласен, это на самом деле, как бы моя ошибка, то есть я как бы и имел ввиду «потенциальные препараты» или «соединения кандидаты» и в диссертации я это в принципе написал во многих местах, но в каких-то местах, и к сожалению, к сожалению, в том числе и в выводах, я просто как бы вот это слово пропустил. То есть моя ошибка в том, что я не обратил просто на это внимание. Я прекрасно понимаю разницу, и конечно получилось неправильно. Далее, вопрос по поводу выбора ведущей организации: связано с тем, что большая часть работы посвящена опухолям мозга, глиобластоме. И мне показалось разумным если это как бы будут читать люди, работающие непосредственно с мозгом. И в особенности, в этом институте есть лаборатория, которая специфически изучает роль апоптоза в развитии нервной системы, и мне вот это показалось очень как бы близко к моей работе. И опять же, мне вот именно сейчас, разумеется это не вошло в диссертацию, как бы вот действительно крайне интересно исследовать этот процесс в нормальных тканях, происходит ли он. И тоже здесь была как бы некая идея, что может быть с замашкой на какие-то последующие коллаборации, чтобы попытаться посмотреть этот процесс в нормальных тканях. Дальше следующий вопрос, который я запомнил, это по поводу клеточной линии. Да, действительно это как бы тоже моё упущение. Стоило конечно это всё написать в подписях к рисунку. Ну, соответственно, ответу сейчас, что вначале, где мы смотрели функции белков, там в большинстве случаев мы использовали две клеточных линии это NT1080 и U87MG, которая глиобластома. Вот в основной части, где мы говорили о взаимодействии клеток, мы там использовали первичные культуры, полученные от

пациентов. И каждый эксперимент мы повторяли минимум с двумя культурами, полученными от двух разных пациентов. В некоторых случаях этих культур было 5 и, по моему, даже 6. Соответственно, мы их как-то называли каким-то своим образом, ну понятно, что единственное какое-то описание этих клеток тут является так называемый STR анализ, который я привожу в материалах и методах. Потому что понятно, что клеточная линия 0025 это никому ничего не скажет. Ну а как её назвать, если это получено нами из пациентов. Ну вот единственный способ её идентифицировать, который сейчас очень используется в статьях это STR анализ. Далее, по поводу даты публикации: первые данные которые мы получили вот они, опубликованы в журнале MCP в 2014 году. Вот, соответственно, началось всё с этой статьи. Ну и вот по данным если смотреть публикации она самая первая. То, что опубликовано в 18ом году это уже в глиобластоме. Ну и понятно, что с момента 2014 года мы стали эту тематику развивать, и понятно, что какие-то публикации вышли раньше и какие-то позже. Но началось всё собственно от сюда. Впервые это описали. Вот. Какой ещё был вопрос... А, вопрос по поводу ацетилирования Сурвивина. Да, тоже я как бы с этим полностью согласен. Действительно ацетилирование Сурвивина может возможно как-то мутант может ацетилироваться по-другому. Но если как бы доверять опубликованной литературе, то там говорится, что ацетилирование как раз два варианта. Один вариант, это оно нужно для регуляции димеризации, и поэтому соответственно это ацетилирование как раз на участке близком к участку димеризации. Соответственно в данном случае мы использовали мутант, который не димеризуется вообще, и поэтому по идее это ацетилировано, не ацетилировано, всё равно, какая разница, димеризоваться он не может. А другое ацетилирование у Сурвивина это происходит на С-конце, я сейчас точно не помню, по-моему, в районе 130ой аминокислоты. И оно уже важно для регуляции клеточного цикла. И здесь опять же по структуре мы думает, что этот участок у нашего мутанта более ли менее такой же, хотя конечно нельзя исключать тот факт, что поскольку белок находится не в виде мономера, а в виде димера, он возможно также по-разному может реагировать и с белками, ацетилирующими Сурвивин. Но основная функция ацетилирования по литературе это вот регуляция димер-мономер, которая, как мы считаем, в данном случае не очень актуально, потому что это мутантный белок. Далее, так так так, что ещё?

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: Мыши.

Соискатель (Павлюков М.С.): А, мыши! Да, тоже прошу прощение, тоже стоило это указать. Соответственно, мы действительно использовали и такие и такие мыши. Соответственно, здесь у нас было два принципиально разных типа оценки. Один это как бы кривая Каплан-Маейура, то есть сколько эти мыши живут и просто получение срезов опухолей. Как-то так получилось, что мы это делали на нудах, и, соответственно, второй это вот биолюминисценция в живых мышах, это мы делали на NOD/SCID мышах, соответственно, эту серию экспериментов. Но на самом деле надо сказать, что вот так по ощущениям примерно никаких существенных отличий не было. Что в таких, что в таких мышах. Единственное, к сожалению, эти NOD/SCID с ними оказалось сложнее работать, потому что они уж очень как-то чувствительны к анестезии. Сильно онидохнут от неё

почему-то, не знаю почему. Ага, вот, так, так, так, про вот этот вот график! Про взаимодействие организмов. Здесь на презентации. Значит здесь такой немножко сложный момент, что как бы вот сам этот анализ он построен таким образом, что программа ищет какой-то кластер белков, соответствующих какой-то функции. Соответственно, эти кластеры организованы иерархически. То есть, например, самый верхний кластер — это там «внутриклеточные белки». Понятно это там огромное количество белков. Дальше там идёт, допустим, белки, взаимодействующие с РНК, дальше белки регуляторы сплайсинга, ещё ниже белки такого-то комплекса сплайсосомы. Ещё ниже там ещё что-то. Вот, соответственно, в данном анализе, интересны как бы те термы, которые находятся внутри этого дерева внизу. Которые дают нам какую-то реальную информацию. Взаимодействие организмов — это как раз один из наиболее высоких и общих терминов, которые как бы условно говоря, под этот термин относится, ну я не знаю, очень много белков, самых разнообразных. И вот как бы программе не удалось из этой большой группы выделить какие-то более маленькие группы, и поэтому она вот так вот выдала. Но тем не менее, какой-то вывод здесь сделать сложно. Если мы уже посмотрим целенаправленно, что это за белки то это на самом деле некоторые такие классические белки, рецепторы, которые переносятся везикулами. То есть, вывод, просто я не стал из этих данных делать никакого вывода, потому что он бы был очень таким притянутым за уши, что в нормальных условиях везикулы, ну опять же это не вывод, а что можно было бы сказать. Что в нормальных условиях везикулы переносят так сказать какие-то классические везикулярные белки, рецепторы и так далее, а при апоптозе они уже эти классические белки не переносят, а переносят что-то ещё. Но это, вот опять же, поскольку в данном случае этот терм он очень такой общий, то такой вывод делать рискованно, поэтому я как-то решил про это не говорить. Поскольку мы действительно не делали никаких особо больших контролей по этому поводу. И сфокусироваться уже на белках, которые переносятся уже именно в апоптотических везикулах.

Официальный оппонент, член-корр. РАН Купраш Дмитрий Владимирович: Ингибиторы Сурвиина и мышки.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, ингибиторы Сурвивина и мышки. Собственно, да, мы здесь действительно, мышей использовалось мало. То есть уже позже мы естественно пытались использовать уже больше мышей. Хотя бы 6-8, иногда 10, вот. А в этом эксперименте соответственно мышек использовалось, я сейчас не помню, ну то ли три, то ли 4. Поэтому как бы действительно здесь как бы могут быть к этому вопросы. Но действительно как бы мы видели существенную разницу. И здесь опять же как бы это на самом деле вот этот эксперимент он проводился давно. И поэтому сейчас мы уже понимаем, что возможно стоит делать другим образом, потому что далее мы вот здесь использовали, вот в особенности вот в этой основной части работы. Которая везикулы. Сейчас я найду этот график. Некие такие наиболее, как нам казалось, близкие модели человеческой глиобластомы. Вот. Вот вы можете посмотреть, здесь дни. Здесь мыши погибают через 120 дней. Это как бы с одной стороны очень долго и сложно этого ждать, но с другой стороны, вот это как мы думает максимально чётко показывает нам реальное

поведение опухоли, как она есть в мозгу. Вот на первых стадиях мы как бы ещё всё это не совсем понимали. И использовали просто клетки, вероятно напрасно, которые просто быстрее всего убивают модельное животное. Что как бы безусловно удобно для экспериментов, но вот так вот идеологически может быть не лучшим вариантом, если мы стремимся как бы описать действительно какую-то человеческую опухоль, а не модельную систему. Вот. Какой ещё вопрос? Всё? Ещё раз большое спасибо за отзыв.

Официальный оппонент, член-корр. РАН Купраш Дмитрий Владимирович: Спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Мы работаем уже два часа, но я думаю перерыв объявлять не будем. Давайте проведём процедуру полностью, без перерыва. У нас ещё два официальных оппонента. Алексей Владимирович, мы уступим даме следующее право оппонирования?

Официальный оппонент, д.б.н. Бабаков Алексей Владимирович: Да.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Лидия Павловна Сашенко. Заведующий лаборатории в институте биологии гена.

Официальный оппонент, д.б.н. Лидия Павловна Сашенко: *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Как всегда, в вашем институте галантность. Уважаемый Вадим Тихонович, глубоко уважаемые члены учёного совета, коллеги. Я с удовольствием согласилась оппонировать эту диссертацию, потому что должна сказать, что очень мне импонирует академичность вашего учёного совета этого института. И всегда ко мне очень вежливо относятся как к даме. Ну мне ещё очень понравилась тема. Совершенно очевидно, что совестное сосуществование опухолевой клетки и организма хозяина приводит к их непрерывной борьбе за выживание. Эта борьба приводит к опухолевой клетки приспособлению определённым, а именно постоянной изменчивости их защитных систем. Настолько часто идут эти изменения, что организм хозяина не успевает реагировать на эти изменения, что приводит к заболеванию. Естественно такие изменения у нас в иммунологи называются иммуноклонение. Я назову три наиболее важных и интересных, это сбрасывание клеткой с поверхности белков гисто совместимости с поверхности клетки опухолевой. Она становится не видимой для цитотоксического лимфоцита. Блокирование если уже апоптоз индуцирован, то есть уже клеточная смерть индуцирована. Блокирование передачи внутриклеточных цитотоксических путей и приводящих к выживанию этой клетки. И совсем сравнительно недавно показано, что даже умирая клетка по апоптозу она может сделать, позволю себе этот жаргон, может участвовать в эволюции злокачественных новообразований. Все эти изменения препятствуют поиску разумных методов лечения опухолевых заболеваний. И совершенно очевидно, что направленная терапия она должна основываться на понимании механизмов опухолевой защиты. Диссертация Павлюкова Марата Самвеловича как раз и связана с этими вопросами. Она посвящена изучению регуляции апоптотических процессов, и она связана с выявлением роли апоптоза в злокачественной трансформации. Это очень интересно, это очень актуально. Я не буду. Огромная работа, я не буду совершенно останавливаться на всём, как это положено оппоненту. Я остановлюсь только

на том, что мне кажется очень интересным и с чем я не согласна. Работа состоит из трёх отдельных частей, логически связанных между собой. Первая часть посвящена изучению регуляции митохондриального апоптоза. Почему автор не берёт какой-то один известный белок и не изучает досконального его механизм по стадиям? Он берёт 4 известных белка: AIF, Параоксоназу 2, Трансглутаминазу 2 и Сурвивин. И расширяет представления о том, что известно в литературе об этих белках. Начинает с AIF. Путём очень трудоёмкой работы, и как белковик я могу сказать, что она проведена на очень высоком уровне. Ему удалось показать, что фактор, апоптотический фактор AIF на наружной мембране митохондрий закреплён на белке Морталине. Который относится к семейству белков теплового шока. Вот эта последняя фраза объясняет всё сразу. Она может объяснить механизм диссоциации AIF. Зная механизм действия белков теплового шока, зная, что в пептидном центре, пептид связывающем участке этих белков теплового шока, белок присутствует в одной конформации. Как только изменяется его конформация он мгновенно диссоциирует. Здесь происходит. Зная это можно сразу предполагать, что изменение конформации AIF под действием поли-ADP рибозы, просто вызывает спокойный выход AIF в цитоплазму. Ну с моей стороны, это очень изящно и элегантно показано, не взирая на очень большую работу. Однако, я совершенно не согласна с предположением диссертанта, что из этих результатов вытекает, что можно делать предположение, что увеличение концентрации Морталина превратит его в ингибитор. Не знаю с чего он... то есть это абсолютно голословное заявление без соответствующих данных. Он должен, если так полагает, то изменить концентрация с помощью поли-ADP-рибозы AIF и посмотреть, будет ли держаться она в комплексе с Морталином в зависимости от его концентрации. А так это звучит ужасно. С моей стороны, теоретически это просто невозможно, это не может быть. Потому что на Морталине сидит AIF только в одной конформации. Как только изменяется конформация AIF он просто диссоциирует, и изменяет его не Морталин. Но сколько не посади Морталина, от этого легче не будет. Поли-ADP-рибоза, здесь важнее PAR, который производит поли-ADP-рибозу. Поэтому я считаю совершенно неправильно написал. Причём он даже написал в заглавии, что Морталин является ингибитором. Это ещё требует доказательства. Ну следующая работа – кусок с Параоксоназой, довольно интересный. Для меня интересно то, что это фермент, присутствующий в мембранах клеточных, и защищающий их от перекиси. Я точно не знаю механизм действия фермента, но скорее всего расщепляет перекиси. И действительно, то что он нашёл эту Параоксоназу, колокализованную с белками ядерной мембраны позволяет ему твёрдо, с твёрдой убеждёностью сказать, что таким образом она защищает ядро, защищает мембрану ядра. И может быть клетка и сможет восстановиться, потому что разрушенное ядро — это смерть. Таким образом, здесь действительно хороший ингибитор. Я не совсем хороший специалист физик, и я не знаю артефакт или не артефакт в этом методе, который определяет конформацию Трансглутаминазы, но мне кажется, что это очень интересная работа, потому что он показал, как она действительно меняется под кальцием, с изменением кальция. Он показал, что изменение точно такое же, точно такая же окраска появляется, когда кальций проникает за счёт ионофора, с помощью ионофора в клетку. И показал это на ранней стадии апоптоза, и я считаю, что

спор о том, как же она приобретает нужную конформацию, который идёт в литературе, потому что нет столько концентрации кальция в клетке, то он, вероятно, нашёлся. Нашлась такая концентрация, потому что у него показано это хорошо. Следующий белок, который он исследует это Сурвивин. Вот тут мне придётся немножко поговорить. Сурвивин, это белок, который широко распространён в опухолевых клетках, и считается, что он вообще-то участвует в блокировании апоптоза. Значит диссертант рассматривает один из путей каспаз-зависимого, по крайней мере начинает с этого, один из путей каспаз-зависимого апоптоза. А именно, связывание Морталина, с фактором, секретируемым митохондриями Smac/DIABLO. Smac/DIABLO сейчас все используют для инициации апоптоза. И он, самое сильное в этой работе, что он совершенно точно, с определённостью показал, что со Smac/DIABLO связывается не димер, а мономер Сурвивина. И он начинает исследовать. Предполагает, что мономер, именно мономер Сурвивина должен оказывать ингибирующее воздействие на апоптоза в клетке. Для этого созданы специальные клеточные линии с мутантами Сурвивина, и даже клетки с пониженным содержанием Smac, путём интерференции РНК. Автор бодро сообщает, что можно видеть, что в тех клеточных культурах, где Сурвивин представлен только в виде мономера, и нив коем случае не может быть димером, явное, заметное, ингибирование, но тут я бы так категорично не говорила. Эффект очень низкий. Ну процентов 15-20 от общего, а вообще, когда смотришь, то всего 6% снижение. Это очень странно, то есть здесь что-то не так. И действительно, когда рассматриваешь, как связывается на цитотоксичности понижением Smac, видно тоже очень незначительное падение. такое впечатление, что диссертант выбрал не совсем верную культуру. Там просто Smac не ключевой, не играет ключевой роли. В блокировании апоптоза. Вот эти все мелкие ингибиторы, регуляторы они очень зависят, их деятельность очень зависит от клеточной культуры. И в одной культуре они представлены, в другой тоже самое, поменяла клетки и ничего уже, что ты видела в одной клетке ты не видишь в другой. Поэтому это нормально. Но я сначала так считала и написала довольно мягко об этом. Но автор здесь он не показывает, но он начинает смотреть, как мономер Сурвивина действует на XIAP. Но, должна сказать, в автореферате написано только одно предложение по этому, на эту тему, а в диссертации добавлено ещё одно. Всё что написано, и так это всё вроде пройдено и так незаметно. Значит он пишет, что он смотрел связывается ли мономер Сурвивина с XIAP для того чтобы выяснить стабильность XIAP, который собственно и является истинным ингибитором. Ведь он здесь не показывал схему, а схема ингибирования заключается в том, что Smac связывается с XIAP, а XIAP, который может связываться с каспазой-9 не связывается с ней, и тогда проходит апоптоз. А если заингибировать, убрать Smac, то XIAP свободный, и он начинает блокировать апоптоз. И на этом строится идея. Хорошо, значит продление жизни антиапоптотического белка. Причём написано так, что вроде бы буду исследовать. Я открываю, ищу, ни одного эксперимента на эту тему нет. Значит что-то написано в диссертации, что Сурвивин перекрывает центр связывания с убиквитином. Значит можно полагать, что таким образом он будет спасать её от протеасомной деградации. Очень хорошо, только хотелось бы знать, чьи это данные. Исследователя предварительные или это литературные. Но тем не менее я вижу, что существует комплекс, точно такой же

комплекс, какой показал диссертант Сурвивина со Smac. Точно такой же комплекс с XIAP. То есть он непосредственно связывается с этим важным ингибитором каспаз. У меня вопрос, а что комплекс XIAP-Сурвивин будет блокировать каспазу или нет? Потому что исходит из того, что он с ним не связывается, что он не будет блокировать. Я, вот зная эти белки, не предполагаю, что двойной комплекс, будет он довольно большой, ещё свяжется с третьим белком и будет блокировать. Блокируют всё-таки белок-белковые взаимодействия, а не взаимодействия трёх белков. Скорее всего нет. Но в любом случае, всё это можно выяснить только по-настоящему, подойдя к изучению этих комплексов. То, что сделано диссертантом, это не то. Филькина грамота. Потому что, говоря о комплексах, мы видим только точки, пятнышки. А здесь, и это могло бы сойти, если бы было прекрасное ингибирование в клетке, показано как хорошо пошло. Но здесь он говорит о двух комплексах, и он один комплекс может ингибировать, а если связывается и создаёт второй комплекс, то он может вообще активировать и не будет никакого ингибирования. Может в связи с этим мы не видим ничего в клетке точного. То ли ингибирование, то ли нет. В этой ситуации диссертант обязан был получить комплексы, хотя бы зная их стехиометрию. Самое главное, взять, для того чтобы их сравнить, что они из себя представляют, и самое главное, определить константы связывания между ними и узнать, кто предпочтительнее для Сурвивина. Smac или XIAP. Если Smac, то он прав, ингибирование может быть, то извините господ. Вы добавляете вещество, которое с чем свяжется, с тем свяжется. И это я считаю, что странно конечно. Здесь можно доделать, и написано очень поверхностно, совершенно не понятно, и это не приемлемо. Значит ещё у меня ещё одно замечание по этой же части. Дальше он переходит, здесь он не говорил об этом, но он переходит, он показывает это в своей схеме, что он может, мономер Сурвивина может ингибировать и каспаз-независимый апоптоз. Одна фраза. Там действительно эффект очень низкий, гибели клеток, но само ингибирование довольно заметное, на 50% можно считать, что так оно есть, но извините, хотя бы какое-то объяснение. Человек начинает с роли Сурвивина в каспаз-зависимом апоптозе. Smac, XIAP, хотя бы намекнуть мне, с какими белками будет связываться Сурвивин в этой второй стадии апоптоза, другой линии, петле. Я считаю, что это самая неудачная часть работы, она плохо написана, хотя и хорошим литературным языком, и явно выплывают недоделки. Значит знакомство уже с другой частью, связанной с изучением роли погибающих, апоптотических клеток в трансформации опухолевых клеток, мне, не специалисту совершенно в этом вопросе, очень понравилось. Здесь я считаю она хорошо задумана, хорошо сделана, хорошо написана, есть логика постановки экспериментов, хорошие контроли. Хоть его и критикуют специалисты, но мне вот так поверхностно, показалось что здесь всё очень красиво и очень стройно выглядит. Ну я опять же не буду всё говорить, я остановлюсь только на одном, на двух моментах. Значит мне очень понравилось, как показано выход сплайсосомы из клетки при апоптозе. Причём так разумно, продуманно. Вначале он ингибирует zVAD и показывает участие каспаз в этом процессе. Потом там действительно уже кто-то кроме него уже сделаны структуры одного из белков, или может быть он искал как-то, по-другому это выяснилось из банка данных. Но структура одного из белков очень интересная. Она состоит из двух доменов. Один

домен связывается с хроматином. Второй домен может взаимодействовать с РНК. А между ними сайт расщепления каспазами. И исходя из этого делает очень интересную плазмиду. И мы видели, как это красиво и изящно показано, что в контрольных клетках... плазмиду с разными красителями на конце. И N-конец и C-конец колокализованы в ядре, и только C-конец выходит после расщепления, только N-конец остаётся внутри и только C-конец выходит. Красиво. Ну хорошее разрешение микроскопа всегда очень радует, всегда очень красиво. Здесь действительно и работы много было сделано, и очень изящно, поэтому мне очень понравилось. Но, у меня вопрос, почему автор всё время употребляет слово «каспазы»? «Центр расщепления каспаз». Центр связывания, то есть каспазы расщепляют. Таким образом, роль каспаз. Извините, я мы всех, такая терминология граничит с незнанием вопроса. Все знают, что каспазы это уж строго специфичные ферменты. Они щепят совершенно определённую последовательность. Поэтому очень хочется знать, какая же последовательность заключена между этими двумя доменами. Из того, как пишет диссертант, такое представление, что он считает, что каспазы это совершенно всё равно, что какая подойдёт, такая и расщепит. Что глубоко не верно. Но, я думаю, что он всё это хорошо знает, тут ситуация просто в том, что он не знает точно какая каспаза. Поэтому он пишет в общем. А на самом деле это легко было решить, применив специфически ингибиторы, и можно было выяснить и даже кое-что прояснить дальше. Значит и следующий вопрос, который мне очень нравится, это действительно который меня поразил, это появление сплайсосомы в соседней клетке, которая была точно такая же, но просто устояла от действия апоптоза. И она начинает менять свой сплайсинг, она перерождается, у неё появляются мезенхимальные изомеры, то есть изомеры. И всё это просто. Такое ощущение, что человек видит рождение нового фенотипа. И этот фенотип соответствующий, с изменением фенотипа в злокачественную сторону меняются его свойства. Он как нам показано, прекрасно подвижность, эти клетки способны к миграции, очень быстро растут, и они инвазивные. Приникновение, глубоко проникают в здоровый мозг человека. Я плохо знаю метастазирование, не знаю, какие критерии предъявляются к метастатической клетке, но мне кажется, что это клетка, которая описывает это явление, которую описывает Павлюков, это как раз наблюдение за появлением метастаз или их предшественников. И, возможно, именно с этими клетками и связана та ремиссия, которая возникает при лечении опухолевых заболеваний. Вот без этих клеток никак. Ну и эта работа, это наблюдение усиливается просто очень тем что выяснено, в какой то степени не окончательно, но выяснена, роль вот этого белка RBM11, и я так думаю, что его механизм действия ещё приходится изучать и изучать, смотреть, но если серьёзно здесь поработать, то может быть можно будет каким-то образом выяснить этапы перехода. И тогда можно совершенно направленно с этим бороться. Мне кажется, что эта часть работы очень высоко сделана. Но третья часть работы это - создание веществ, которые могут бороться с мезенхимальными, этими самыми злостными клетками. Это вещества предлагаются на основе ингибиторов НЕК киназы, которая участвует в сплайсинге этом злокачественном, альдегид дегидрогеназы, которая тоже маркер мезенхимальный, и, как всегда, Сурвивин. Вот эти два первых ингибитора мне кажется, что они довольно интересные, потому что у них в общем понятен механизм действия и с ними всё ясно. По-хорошему очень

разжёвано автором. И с ними всё ясно, и у них до ста дней выживаемости – это сильно. Я думаю, что как раз над ними можно работать, я не говорю, что это надо сейчас в противоопухолевое куда-то включать. Но над ними можно работать, и их можно пытаться доводить до лекарства. Это интересно. А вот это, то что касается Сурвивина, ну должна сказать, что значительно действие его ниже, всего 30 дней выживаемости, таких очень много соединений. Кто угодно может это вызвать. И что самое главное настораживает, автор предлагает механизм действия. Автор сшивает этим соединением мономеры, утверждая, что таким образом он препятствует блокированию апоптоза. Апоптоз будет проходить. Вот настораживают те последствия, которые при таком лечении могут возникнуть. Он только что нам показал, когда рядом умирает клетка по апоптозу. Значит я не буду останавливаться на четвертой части, я скажу... Дальше идут выводы. Ну мы всегда стандартно, сколько я оппонировала в этой жизни, всегда стандартно пишем, что выводы вытекают в основном из результатов эксперимента и отражают содержание диссертации. Эти выводы и вытекают, и отражают. Но они сформулированы очень, оставляет их формулировка желать лучшего. Они очень кратки и совершенно не информативны. Нельзя, то есть из них, читая выводы, нельзя понять, что же сделано диссертантом. Специально иди почитай и посмотри. Потому что очень часто я, открывая пред оппонированием автореферат, читая вывод, уже представляю, что сделано. А потом уже детально знакомлюсь. Здесь не понятно ничего. Из вывода, из установленной функции RBM17 в опухолевых клетках совершенно не ясно какие функции, и что установлено, зачем и почему. И это, извините, странно. Неприятно удивляет, удивил меня и список литературы. Я не понимаю, почему русские журналы автор приводит из PubMed. Он что, стесняется русской речи в своей диссертации. Это не наказуемо, но откровенно говоря, я первый раз такое вижу, выглядит неприемлемо. Ну вот, я сказал те достоинства, которые мне понравились, те недостатки. Должна сказать, я сейчас вот подсчитала, я, наверно, лет 45 оппонирую, не подряд каждый год, но оппонирую, даю выводы ведущей организации пишу. Я много работаю с этим. Я должна сказать, что я не встречала работы без недостатков. Они всегда есть, и всегда кто-нибудь что-нибудь найдёт. И важное, что я хочу сказать, что все недостатки, о которых я сказала, что они сути работы не снижают. Они просто к формулировке, к форме написания относятся, к чему угодно. И работы, не касаются сути, и ценность её не снижается. А работа производит очень хорошее впечатление. И я совершенно покойно могу сказать, что она достойна быть докторской диссертацией, а Павлюков Марат Самвелович достоин быть доктором наук. Спасибо за внимание.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Не часто мы слышим столь подробный анализ диссертации.

Официальный оппонент, д.б.н. Лидия Павловна Сашенко: Боюсь, что я на этом выросла. И в то время так было принято.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Но я констатирую свои впечатления. Марат Самвелович, вам слово для ответа на замечания.

Соискатель (Павлюков М.С.): Большое спасибо за хороший отзыв. Ну значит я начну с конца замечаний. Тоже постараюсь ничего не упустить. Вот значит, что касается выводов, в принципе я их на самом деле переписывал довольно много раз в разных вариантах и подлиннее и покороче, и действительно возможно здесь не самая удачная формулировка, действительно наверно стоило это написать поподробнее, я с этим полностью согласен, но с другой стороны я как бы преследовал цель, чтобы это как бы потому что работа довольно большая, чтобы это можно было написать, и главное прочитать на проекторе. Потому что в ином случае это были бы очень длинные выводы, которые пришлось бы говорить «разрешите не зачитывать выводы» хотя, по-моему, это важно. То есть я согласен, что они неудачные, но я пытался, чтобы это органично выглядело в презентации, чтобы это можно было действительно взять и прочитать, и чтобы человек после того, как прочитал или послушал то, о чём я говорю, он бы мог себе примерно представить ещё раз структуру. Но да, я согласен, что можно было лучше. Дальше следующий вопрос, по поводу русских публикаций на английском языке. Тоже я как бы полностью согласен, не стоило так делать, но пытался делать, чтоб было единообразно. Ну вот погнался за единообразием, и получилось вот так вот. Но зато все ссылки в одном формате. Далее, что касается Сурвивина. Значит здесь я на самом деле некоторую схемку привёл. Здесь наверно стоило подробнее написать эту часть в обзоре литературы. Потому что к каждому из этих комплексов, как Сурвивин со Smac, так Сурвивин со Smac там посвящено я думаю статей 50 наверно, там сделано и ЯМР и кристалл и константы, и всё что только хотите. Сурвивину и XIAP поменьше, но тоже существенное количество статей. Поэтому в наши цели не входило исследовать каждый из этих комплексов, потому что по ним, по каждому из них сделано уже очень много, и чтобы добавить что-то своё новое тут бы пришлось действительно делать какую-то колоссальную работу. Которая опять же в тематику этого проекта у нас не входила. Но скажу вот, что. Что вот здесь я привёл схемку того, как эти все белки работают. Вот стандартная схема. Что здесь может быть Сурвивин, что он ингибирует Smac, Smac ингибирует XIAP, XIAP ингибирует каспазы. Но на самом деле, ситуация существенно сложнее, потому что и Сурвивин, и XIAP, и ещё 4, если я не ошибаюсь, других белка они относятся вот к этому IAP семейству белков. И их функциями управляют так называемые VIR домены. И, например, XIAP имеет таких домена три. То есть он тремя доменами способен одновременно взаимодействовать с каспазами и тремя доменами способен теоретически взаимодействовать с Сурвивином. И вот у этих вот VIR доменов у них есть свойство, что они любят образовывать димеры, причём димеры могут быть как гомо димеры, так и гетеро димеры. Поэтому ситуация получается действительно очень запутанная, потому что у каждого белка есть несколько очень похожих друг на друга доменов, у них действительно высокая гомология, но при этом эти домены отличаются. И, например, вот было показано, что у XIAP один домен имеет большую афинность к каспазам, другой меньшую. Тоже самое к Сурвивину, один домен лучше взаимодействует с Сурвивином, другой хуже. И вот в итоге получается некий суммарный очень сложный эффект от того что эти IAP белки с VIR доменами образуют олигодимеры, и..., не олигодимеры, а гетеродимеры. Образуют гетеродимеры друг с другом и суммарно

регулируют апоптоз таким образом с помощью различных механизмов. И Сурвивин, он как бы про него особенно много статей, несколько тысяч. И эти статьи говорят о том, что это очень многофункциональный белок. И он способен ингибировать апоптоза по самым разным механизмам. Основное, то есть в нашей работе мы просто взяли и последовательно проверили все механизмы, уже известные, по которым Сурвивин способен ингибировать апоптоз. И сравнили для этих механизмов действие димера и мономера. В случае со Smac, действительно эффект оказался слабым, в случае с каспаз-независимым апоптозом эффект оказался сильнее. Но идея в том, что всё равно во всех этих экспериментах, что важно, мы видели, что мономер работает лучше, чем Сурвивин дикого типа. То есть тот, который существует как в виде димера, так и в виде мономера. И здесь действительно наверно стоило мне существенно более подробно написать обзор литературы на эту тему, чтобы просто подробнее написать про все вот эти вот многочисленные комплексы и их сложные взаимодействия между ними. Соответственно, задача просто наша, ещё раз повторюсь, была сравнить Сурвивин дикого типа и наш мутант мономерный в том, как они ингибируют апоптоз. И во всех этих сравнениях мы получили результат, что мономер ингибирует лучше, чем, соответственно, Сурвивин дикого типа. Где-то эффект был слабый, где-то сильнее, а уже сравнивать все эти комплексы это уже очень сложная и очень большая задача, потому что эти комплексы, во-первых, хорошо охарактеризованы, а, во-вторых, из-за вот этих многочисленных, по крайней мере у XIAP, BIR доменов, они действительно могут быть сложными. То есть поскольку BIR доменов несколько, то XIAP одновременно может взаимодействовать, теоретически, я не говорю, что это происходит в реальной жизни, но тем не менее, теоретически одновременно одним доменом может взаимодействовать с Сурвивином, другим со Smac, третьим с каспазой. Ничего ему так делать не мешает. То есть здесь я согласен, есть какие-то упрощения, но, на мой взгляд, просто следовало мне лучше написать, написав что-то уже про эти комплексы. Что наша задача была именно сравнить, кто лучше ингибирует апоптоз димер или мономер, и исходя из этого уже думать, как это всё работает. Дальше. Следующее. По поводу расщепления каспазами. Где этот слайд? Значит и на слайде, и в автореферате вот здесь написано, что сайт расщепления каспазой-3.

Официальный оппонент, д.б.н. Лидия Павловна Сашенко: Вы это показывали, или это откуда?

Соискатель (Павлюков М.С.): Это из литературных данных. Соответственно.

Официальный оппонент, д.б.н. Лидия Павловна Сашенко: Но вы при этом употребляете слово «каспазы» как будто боитесь.

Соискатель (Павлюков М.С.): Да, я понимаю. Соответственно, вот как бы...

Официальный оппонент, д.б.н. Лидия Павловна Сашенко: Всё понятно.

Соискатель (Павлюков М.С.): Соответственно, структуры белка этого нет, но была известна его доменная организация. Соответственно, два домена, между которыми сайт расщепления каспазами, каспазой-3. Да, я вот опять повторяюсь, говорю «каспазами», а на

самом деле «каспазой-3». Соответственно, мы показали, что он действительно в наших условиях при апоптозе расщепляется и самое главное, что разные части этого белка имеют разную судьбу. И, если я не ошибаюсь, последнее, что касается AIF и Морталина, Вот. Здесь действительно мы показали, что Морталин важен для закрепления белка AIF на митохондриальной мембране, и очень важно мы показали, что действительно высокое количество Морталина коррелирует с плохим прогнозом для выживаемости пациентов. И вот в этой статье на основании тех данных, что мы получили, делаем такое предположение, что, действительно, больше Морталина может означать большую защиту от апоптоза. Действительно, я полностью согласен с уважаемым оппонентом, что конечно это хорошо было бы доказать, и сделать какие-то дополнительные эксперименты. Может быть это или не может, здесь вопрос сложный, потому что AIF это белок, который может распределяться в совершенно разных компартментах клетки, и в зависимости от того, где он находится, он будет выполнять разные функции. Соответственно, больше Морталина на наружной митохондриальной мембране может означать, что больший процент AIF будет находиться именно там, а не в каком-то ещё месте. В обзоре литературы я про это достаточно подробно пишу. Но, наверно, стоило лучше обозначить, что вот это именно наше такое предположение, что количество, большое количество Морталина лучше привязывает AIF. Которое конечно было бы неплохо доказать ещё. И..и..и.. Ну вроде бы я на все вопросы ответил. Кажется.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: Да.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Ну все, так всё. Спасибо. Но нам предстоит ещё заслушать один отзыв. Алексей Владимирович Бабаков. Профессор, институт сельскохозяйственной биотехнологии.

Официальный оппонент, д.б.н. Бабаков Алексей Владимирович: Защита долго длится.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Близко к рекорду.

Официальный оппонент, д.б.н. Бабаков Алексей Владимирович: *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Я постараюсь не повторяться, и в своём отзыве отмечу то, что не говорили другие оппоненты. Первое это касается актуальности этой работы. Значит долгое время ложность лечения раковых заболеваний связывали с тем, что опухоль гетерогенна. Поэтому, когда делается химиотерапия, то всегда после химиотерапии часть клеток остаётся живыми, потом они дальше начинают развиваться.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Давайте я вам поближе микрофон.

Официальный оппонент, д.б.н. Бабаков Алексей Владимирович: А поближе, хорошо. Однако последнее время в результате развития методов секвенирования нуклеиновых кислот отдельных клеток стало понятно, что дело совсем не так просто, что сложность лечения раковых заболеваний связана ещё и с тем, что клетки, которые приобретают устойчивость к химиотерапии у них изменена и транскрипция. Вот и работа, как раз данная диссертация она в какой-то степени, хотя бы немного раскрывает механизм, как

это вообще получается. Каким образом меняется транскрипция при химиотерапии. Поэтому я думаю, что действительно эта работа очень актуальна. Теперь у меня есть замечания относительно литературного обзора. Два замечания, одно как бы касающееся содержания обзора, а другое, которое касается написания. Формы написания. Ну для оппонента было бы конечно гораздо проще, если бы в конце литературного обзора были изложены цели и задачи работы. Потому что по крайней мере когда это читаешь в конце литературного обзора тогда, когда уже читаешь саму работу то диссертационную, то понятна логика работы. А так получается, что обзор несколько отрывается от того, что потом следует после него. Теперь замечания по существу. В обзоре всего три страницы уделено экзосомам. А экзосомы, с моей точки зрения, то есть раздел, касающийся экзосом в диссертационной работе он наиболее важный и наиболее интересный. Когда читаешь вот обзор, то кажется, что по экзосомам мало что известно, хотя на самом деле это не совсем так. Потому что ну значит экзосомы начали изучать с 2005-2006 годов, когда было обнаружено, что они транспортируют РНК и микроРНК между клетками. Допустим в 17ом году уже вышел обзор по экзосомам где 142 ссылки. В 17ом году экзосомы найдены в растениях, а в 19ом году, уже вот в нашем году образовался консорциум учёных, которые специализируются именно на изучении экзосом. Вот если суммировать, что сейчас точно известно по отношению, относительно экзосом, то можно сказать следующее: что процесс формирования содержимого экзосом это не случайный процесс, а это процесс упорядоченный и целенаправленный. И поэтому в настоящее время учёные экзосомы считают за универсальное средство общения между клетками. Теперь я хочу сказать об одной особенности данной диссертации. Вот как правило, любое научное исследование начинается с изучения литературы. После изучения литературы дальше возможны как бы два пути: один путь это учёный, он считает, что для формирования некой концепции достаточно определённых экспериментов, и он их начинает проводить. Другой путь заключается в том, что после чтения литературы выстраивается концепция или гипотеза уже в соответствии с которой строится вся дальнейшая работа. Значит очевидно, что второй путь он гораздо более эффективен, во-первых, потому что он ограничивает, сужает, так сказать возможности экспериментов, с одной стороны. С другой стороны, когда в руках есть гипотеза, то уже имея гипотезу можно так сказать планировать определённые эксперименты, для того чтобы или её опровергнуть, или её доказать. И в таком случае как бы доказательная база она становится гораздо более серьёзной. Теперь я хочу, я пропущу ту часть своего отзыва, которая касается белков ингибиторов апоптоза, и перейду к такой самой, с моей точки зрения интересной части работы, и я думаю, что именно за эту работу, просто за одну эту часть работы можно уже присудить докторскую степень. И когда, эта работа касается конечно экзосом. И когда я читал диссертацию, то у меня возникало такое странное чувство, как же так получается, что никто до сих пор не увидел то, что увидел оппонент, то есть увидел диссертант. Дело в том, что уже в 2008 году вышла статья в журнале *Plant... Nature Cell Biology*, в которой проведено очень серьёзное исследование экзосом, которые выделяются клетками глиобластомы. Причём это было сделано, как и с помощью масс-спектрометрии, так и с помощью Next, и там была обнаружена масса белков, масса нуклеиновых кислот, но никто

из них никто там не обнаружил белки сплайсосом, ни РНК сплайсосомы. Причём эта работа не единственная. Таких работ было много, и не только лишь на глиобластоме, но и на других опухолевых клетках и этот результат никогда никем не был получен. На мой вопрос диссертанту- как так получилось? Как он может объяснить такой вот странный эффект, он сказал, что видимо это связано с тем, что учёные мало интересовались в общем апоптотическими клетками и в частности экзосомами, которые выделяют апоптотические клетки, поэтому никто это не увидел. Я думаю, что здесь ответ такой гораздо более глубокий. И связано это вот с чем. Значит, когда, и связано это вот с чем. Ведь апоптоз возникает в результате внешнего воздействия. То есть фактически это так сказать такое стрессовое воздействие. И вот получается таким образом, что когда происходит стрессовое воздействие, по-видимому клетки как раз меняют содержимое экзосом и если сравнивать содержимое экзосом, допустим до стресса и после стресса, то видишь изменения, которые там получаются, и анализируя эти изменения, собственно тогда и можно понять, что вообще говоря за этим скрывается. И именно так и получилось вот в данном случае. Потому что взяли, проверили содержимое экзосом после химиотерапии и до химиотерапии. И оказалось, что как раз вот белки сплайсинга и РНК сплайсинга оказываются в везикулах именно только после химиотерапии. Когда этот результат уже был получен, то тогда автоматически выстроилась вся так сказать дальнейшая серия экспериментов и логика работы. Потому что очевидно, что в таком случае возникла идея о том, что раз переносятся белки сплайсинга, в соседние клетки могут переноситься, то в таком случае там может меняться сплайсинг, и это может привести к повышению их устойчивости к химическому воздействию. И вот дальнейшая часть работы, я хочу сказать, что она сделана на очень высоком уровне, в результате был получен с моей точки зрения совершенно потрясающий результат. Который заключается в том, что после химиотерапии раковые клетки в процессе апоптоза выделяют экзосомы, а которых находится содержимое, которое поглощается соседними клетками и в результате чего повышается их устойчивость к химическому воздействию. Когда, значит, вот я это читал, то у меня естественно возникал вопрос, что я надеялся найти что-нибудь по поводу кросс адаптации. Потому что в диссертации там ведь исследовалось не только, то есть там исследовалось два вида воздействия. Это радиотерапия и химиотерапия. Естественно я думал, как интересно получается, если допустим делать радиотерапию, то получится ли устойчивость к химиотерапии или наоборот. Но, к сожалению, этого я там не нашёл. Вот этот вопрос остался, так сказать, на этот вопрос ответа нет. Но я хочу сказать следующее. Что вообще получается такая странная вещь, что раковые клетки способны анализировать ситуацию, в которой они находятся. То есть в результате химиотерапии, и в результате они значит формируют содержимое экзосом. Которое выделяется, поглощается соседними клетками, и соседние клетки приобретают устойчивость к данному химическому веществу. Так вот, естественно в таком случае можно себе спросить: хорошо, а если теперь дать другое химическое вещество, которое обладает другим способом воздействия, так у них у этих раковых клеток у них устойчивость тоже, так сказать возникнет, или нет. Или она останется, так сказать, или на это ответа не будет. А это, кстати говоря, очень важно для вообще говоря, для химиотерапии в принципе, как я думаю. Когда теперь этот

вот результат в принципе был получен, о том, что выделяемые экзосомы из раковых клеток повышают устойчивость соседних клеток к химическому воздействию, что это связано со сплайсингом, то естественно у диссертанта возникла такая идея о том, что это может быть связано каким-то образом с какими-то из факторов сплайсинга, которые могут переноситься экзосомами. И поэтому он обратил внимание на белок RBM11. Были проведены довольно таки большие, была проведена довольно большая серия экспериментальных работ, из которой в принципе и следует, что в общем то вывод о том, что этот белок принимает участие в изменении сплайсинга соседних клеток. Он не противоречит фактически тому, ну тем данным которые были получены. Но дело всё в том, что для обоснования этих результатов были использованы клетки, где оверэкспрессия этого гена и нокдаун гена. Но известно хорошо, что когда это делается, то тогда и экспрессия, и нокдаун приводят к очень сильному изменению экспрессии других генов. И поэтому вот эти выводы, которые сделаны, вот этот вывод диссертации, с моей точки зрения, он несколько сомнителен. Я, читая работу, вообще нашёл другое объяснение, возможное, которое может следовать прямо собственно из результатов диссертанта. А именно в диссертации показано, что промотер гена RBM11 в клетках пронейронального типа, так, он очень сильно метилирован. В клетках мезенхимального типа он полностью деметилирован. Отсюда вообще можно предположить следующий возможный механизм, а именно: вообще связан с деметилированием промотера. Значит деметилазы, они не специфичны эти ферменты. А специфичность деметилаз определяется либо белками партнёрами, либо это могут быть длинные некодирующие РНК. И поэтому вполне возможно, что вот экзосомы, которые выделяются раковыми клетками, они могут нести партнёры для деметилаз, которые, попадают в соседние клетки, и это приводит к изменению метилирования, и, таким образом, приводит к увеличению экспрессии этого гена. Теперь, заканчивая свой отзыв, я вот что хочу сказать, что работа, с моей точки зрения, великолепная, она сделана на очень высоком уровне. Результаты получены с моей точки зрения крайне интересные, и автор работы безусловно заслуживает присуждения учёной степени доктора наук.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо, вывод ясен, и тем не менее, были замечания, на которые хотелось бы услышать ответы диссертанта.

Соискатель (Павлюков М.С.): Большое спасибо за замечательный отзыв. Я постараюсь кратко ответить. Во-первых, что касается обзора литературы, то тут я полностью согласен. Действительно стоило наверно побольше написать про экзосомы. Но ту меня остановило, что уж очень много про них статей написано, поэтому я кратко написал, хотя действительно стоило написать больше. Дальше, следующий вопрос по поводу кросс адаптации. В нашей работе мы использовали действительно и химио- и радиотерапию, но надо отметить, что химиотерапия это была тоже ДНК повреждающие агенты, то есть как бы несколько сходно с радиотерапией. Действительно вот вопрос о кросс адаптации он очень актуальный, и очень интересный, и стоило бы конечно это посмотреть, и я думаю, что этим мы как раз сейчас и займёмся. Потому что это очень важно, то есть понять, насколько специфический эффект от этих везикул. То есть он увеличивает резистентность

клеток вообще, или какие-то конкретные пути. И вот действительно это очень важная вещь. И, наконец, комментарий по поводу длинных не кодирующих РНК и деметилазы, я как бы крайне очень-очень сильно благодарен оппоненту за такую идею, потому что действительно как-то мы об этом не подумали, хотя действительно известно, что длинные некодирующие РНК играют очень важную роль в клетке, они переносятся экзосомами, и поэтому опять же вот это очень интересно проверить, и мы это обязательно сделаем, большое спасибо за такой комментарий. Однако почему мы выбрали именно сплайсинг, потому что в нашей работе мы старались как бы проводить максимально не предвзятый анализ, то есть не взять какой-то белок или какой-то ген, который нам нравится, а как-то это обосновать. И это как раз отличие нашей работы от фактически почти всех других исследований экзосом. Потому что в данном случае мы выбрали сплайсинг не потому что он нам нравится, а потому что именно он получился у нас при анализе наших образцов. То есть именно эти белки у нас оказались на первом месте. Поэтому мы их использовали для дальнейшего анализа. И вот ещё раз хочу поблагодарить оппонента за действительно такую очень интересную и продуктивную дискуссию. Большое спасибо. Ну вроде бы я ответил.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Мы прошли фактически всю официальную запрограммированную часть процедуры. Остаётся провести общую дискуссию. Кто хотел бы прокомментировать, дать соображения по поводу голосования. Прошу, Николай Владимирович.

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Мы услышали мнения трёх оппонентов и ведущей организации о научной сути той работы, которая сегодня была представлена. А заключения их положительные, то есть мы видим действительно сильную работу, у меня не вызывает сомнений и то, что она удовлетворяет критерию докторских диссертаций, о том, что докторские диссертация это должна быть какая-то новая область, новое направление, принципиально. Тут есть такое. Несмотря на то, что полученные результаты в некоторой степени вызывают сомнения, но учитывая вот эту революционность, наверно можно списать некую поспешность этих результатов на её революционность. Но я хочу сказать о совсем другой, второй стороне диссертации. О её словесной оболочке. Вот словесная оболочка здесь, на мой взгляд, плохая, если не сказать очень плохая. Мы с вами живём в определённой среде. Языковой среде, и мы живём в сообществе, которое называется сообщество учёных. У нас есть свой язык. И этот язык надо принимать и им надо пользоваться. Если кто-то пользуется другим языком, каким-то новоязом, который он создаёт сам, вопреки сложившимся традициям, то он будет восприниматься плохо. Однозначно плохо. И поэтому, наверно, не стоит делать революцию в нашем языке. А конкретно, я сейчас некоторые вещи повторю, которые уже прозвучали, но тем не менее их надо просуммировать. Вопиющая конечно штука это про разработанные препараты. Я не буду сейчас повторять. Это действительно ни в какие ворота не проходит. И я не удивлюсь если будут проблемы, если кто-то в ВАКе, кто занимается фармацевтической химией, увидит эти формулировки, то мало не покажется, я считаю. Дай бог чтобы этого не было. Выводы. Качество выводов, Лидия Павловна очень хорошо сказала, я добавлю

только то, что из 8 выводов, на мой взгляд, полтора вывода конкретные, а всё остальное вещи совершенно действительно не конкретные. И они по стилю напоминают заключение к отчёту, а не научные выводы, которые мы хотим видеть в очень хорошей, продвинутой научной работе. В самом тексте, в первую очередь автореферата, диссертацию я смотрел бегло, многие фрагменты написаны некорректно, в том смысле, что мы не можем понять, что сделал автор, а что сделано в литературе до него. И часто возникает полное недоумение. Скажем, у меня возникает полное ощущение, что он сделал рентгеноструктурный анализ. А потом, при уже глубоком рассмотрении, оказывается, что ничего подобного. Это идёт ссылка на литературу, но про литературу нет ни одного слова. И из контекста тоже это не следует. Много, очень много терминологического брака. Я сейчас не буду приводить примеры. Они сегодня были приведены в большом количестве. На самом деле их больше. Это то, что касается чисто литературы. Но есть ещё у этой словесной оболочки этическая часть. И в этой этической части я тоже наблюдаю элемент лукавства. Скажем автор использует слово «мы» в своём автореферате. «Мы сделали», «нами показано». Но так как автор этой работы один, то мы понимаем, что в данном контексте «мы» означает «я». Это вежливая форма слова «я». И далее мы читаем, в этом же автореферате, что все результаты, описанные здесь, кроме химического синтеза, получены лично автором, или под его личным руководством. А в процессе сегодняшнего разговора мы выясняем, что это не так. Что дизайн тех соединений, которые потом названы препаратами, делался не автором, и я так и не понял степень участия автора в этом дизайне. Но читается это так, как будто сделал это действительно он, и это лично его заслуга. Ещё одна штучка. Вот мы видели выводы, которые были на экране, 7ой вывод, опять-таки, возвращаясь к этим злосчастным препаратам. Здесь мы видим слово «потенциальные препараты». Если мы посмотрим в текст реферата, там этого слова «потенциальные препараты» нет. Я не все слова сравнивал, но это сразу бросилось в глаза. Это тоже с точки зрения научной этики не очень красиво. Это можно было бы наверно сделать, сказав, что я вставил это слово, только в своём, тогда бы это проходило. В данном контексте это не проходит. Ну и ещё из этой же области, мне не понравилось, как диссертант отвечал на вопросы. Это отклонение от прямого ответа, это, если называть вещи своими именами, забалтывание того вопроса, который задавался в большинстве случаев. Вот у меня такое ощущение по второй половинке его диссертационной работы, по словесной её оболочке. Я не знаю, кому адресована моя пламенная речь, потому что в этом зале, к сожалению, очень мало слушателей. И мне собственно хотелось бы, что бы как-то напрямую или косвенно, через вторые и третьи руки, до тех, кто собирается защищаться дальше, дошло то, что надо уважать своих коллег. И пожалуйста, надо стремиться к тому, чтобы не делать вот таких вещей, которые противоречат духу и букве того, чем мы здесь занимаемся. Ну, пожалуй, всё.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Ну что, это касается всех будущих диссертантов и их руководителей, я так понимаю. Спасибо. Александр Габирович.

Академик РАН Габиров Александр Габирович: Выступление Николай Владимировича во многом корреспондирует тому, что я думаю. Я должен сказать всё-таки. Понимаете, ну вот как теперешний директор. Я должен сказать, что мы очень большое уделяем внимание квалификационным требованиям в нашем институте. Начали мы, честно говоря с Вадим Тихоновичем, очень жёстко следя за представителями нашего отдела. И все диссертации у нас заслушиваются как одна. С достаточно критическими, единственно, чего у нас нет - это рецензентов, но это всё проходит очень серьёзно. И вот другие отделы тоже к этому приступили, и в общем я должен сказать, я сразу скажу, что я буду голосовать за, я призываю голосовать за Марата. Но я должен сказать, что я несколько раз слышал работу Марата в разных её вариантах, у нас состоялся очень такой подробный разбор этой работы. На семинаре, которым руководит Ольга Анатольевна Донцова, на который меня приглашают. Большинство замечаний было там сделано, фактически каждый рисунок, каждый слайд Ольгой Анатольевной подвергался вопросу, мной и исследователями. Это не говорит о каком-то недоверии, просто это говорит о том, примерно в том же находится контексте рассуждений, которые здесь высказал профессор Бовин Николай Владимирович. Значит потому что, действительно, диссертация экстраординарная, она очень хорошая, приятно, что есть о чём здесь обсудить и поговорить. Но она настолько гуманитарно представлялась, в хорошем смысле этого слова. А мы всё-таки представители точной науки. И все вопросы всегда следовали, собственно почему эта диссертация так долго идёт защита. Каждый вопрос, на один конкретный вопрос никогда не было конкретного ответа. Всегда это были какие-то длинные рассуждения. Это очень хорошо, тем не менее, я прошу голосовать всех участников, оставшихся здесь, за. Я думаю, что мы имеем дело с очень талантливым человеком. Которому просто нужно немножко понимать ту аудиторию, где он работает и где он дальше будет получать свою квалификационную, свои квалификационные эти. Все оппоненты, представлявшие здесь, были по сути. Я совершенно согласен с Купрашом, что ведущая организация абсолютно не соответствует этой диссертации. И должен прямо сказать, что диссертант должен хорошо подумать о тех оппонентах изначально, которые могли представлять. Он знает, о чём я говорю. Сейчас я считаю, что защита была, как Лидия Павловна подчёркивала, в нашем академическом стиле этого института. Было много замечаний. И я думаю, что Марат не будет на меня дальше обижаться, потому что я очень к нему хорошо отношусь. Всячески мы его превозносим, на всё выдвигаем, Ольга Анатольевна. Но просто мне кажется, что эта диссертация будет ему хорошим уроком для дальнейшей жизни. Здесь собраны специалисты, которых так просто обойти невозможно. Извините за вот такое высказывание. Но после особенно Николая Владимировича, такого строго, нужно было как-то дальше выступить.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Есть желание продолжить дискуссию?

К.х.н. Пестов Николай Борисович: Ну немножечко можно, чуть-чуть совсем?

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Прошу.

К.х.н. Пестов Николай Борисович: Я знаю Марата Самвеловича очень давно, буквально с третьего курса, как он к нам пришёл. И в общем всё это время наблюдал его бурный рост как учёного. И в общем-то и достоинства, и недостатки мы его знаем очень хорошо. Обсудили очень подробно. Хорошо, что немножечко всё это ловко, так сказать, вскрыто. В целом, всё-таки моё мнение, что он достоин степени, и более того, присуждение этой степени было бы очень полезно в целом. И для института, и может быть даже высокопарно выражаясь, для мировой науки. Потому что тогда бы он смог бы сосредоточиться на своём проекте совместном с институтом Бурденко. И тогда, мы может быть, как раньше говорили «практика критерий истины», вот эти его концепции может быть бы подтвердились как-то и это бы способствовало развитию новых подходов для улучшения химиотерапии глиобластомы. Чтобы такая злостная опухоль была бы как-то хотя бы частично побеждена. Спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Ещё кто-нибудь хочет? Собственно, мы едины все. Никто не возражает. Никто не ставит под сомнение. Давайте считать дискуссию оконченной. И если так, нет возражений? Я даю слово диссертанту для заключения.

Соискатель (Павлюков М.С.): Большое спасибо! Значит разумеется я хочу поблагодарить всех за дельные советы, которые я тут услышал. Я разумеется всё запомню, учту и постараюсь в следующий раз как бы всё представлять лучшим образом. Большое спасибо. Вот, ну и естественно хотелось бы поблагодарить очень многих людей, которые участвовали в этой работе. В первую очередь это разумеется мой учитель Шахпаронов Михаил Иванович, с которым я знаком уже 13 лет, и всё это время Михаил Иванович всё время мне помогал, меня поддерживал, и в вопросах, связанных с наукой, и просто, и поэтому я действительно чрезвычайно благодарен Михаилу Ивановичу, потому что без его как бы помощи, без дружеского отношения, было бы очень-очень трудно, а может быть даже и вообще невозможно всё это сделать. Так что большое вам спасибо Михаил Иванович. Также хотел поблагодарить своего друга – Надю Антипову, которая также всё время мне помогала во всём в чём только можно. А также очень хочется отметить моего и друга и колаборатора - Викторию Шендер, с которой мы, вообще говоря, вместе начинали всю эту работу по исследованию этих экзогенных сплайсосом и сейчас продолжаем и у нас как бы готовятся новые интересные публикации, которые я естественно здесь не рассказывал, но тем не менее тоже хочу поблагодарить Викторию, и надеюсь, что у нас дальше будут ещё более интересные работы. Ну и также, разумеется, хотелось поблагодарить большое количество других сотрудников этого института: Рустама Зиганшина за масс-спектры, которые мы делали. Образцову Екатерину за помощь с электронной микроскопией. Ну и других сотрудников тоже, которые так или иначе участвовали в этой работе. Вот, и также ещё в заключение хотелось бы поблагодарить Яковлеву Татьяну Игоревну за действительно вот, как мне показалось, очень такую профессиональную помощь со всеми этими бесконечными документами, которые требуются для защиты. Ещё раз большое спасибо. Вот очень много людей участвовало так или иначе, помогало мне в этой работе, и я им очень благодарен. Большое спасибо.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Спасибо. Ну что я, у меня полное впечатление, что мы созрели для голосования. Для того чтобы провести эту важную процедуру мы должны избрать счётную комиссию. У меня лежит предложение уже, сформулированное нашим учёным секретарём. Без регалий и имён отчества: Шпаковский, Долгих, ну и я от себя добавляю третьего участника счётной комиссии- Олейникова. Предлагается такой состав. Самоотводов не будет, я уже знаю. Будут ли отводы? Отводы нет. Нет возражений против того, чтобы была данная счётная комиссия? Нет. Счётную комиссию мы выбрали. Я объявляю перерыв на голосование. Прошу голосовать. Но не расходитя. Перерыв минут на 10 я объявил. Но не расходитя далеко. Возвращаться, и будем утверждать следующие диссертации, представленные к защите.

(Проводится тайное голосование).

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Я так понимаю, что счётная комиссия посчитала. Как мы будем, держать интригу или...ну давайте объявим, а потом уже продолжим наше обсуждение.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: Хотелось интригу поддержать, чтоб никто не ушёл сразу. Значит вот диссертация Павлюкова Марата Самвеловича, на соискание учёной степени доктора биологических наук. Результаты тайного голосования: была избрана счётная комиссия, в составе: Олейников, Шпаковский и Долгих. Значит посчитали. Присутствовало 21 член диссертационного совета. Это как раз соответствует, кворум есть. Оказалось в урне бюллетеней - 21. Результаты: За – 19, против – 1, и недействительных – 1. То есть результат положительный.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Прошу утвердить то, что мы слышали. Есть возражения? Ну что, поздравим с хорошим результатом! Значит продолжим наше обсуждение.

(Проходит обсуждение проекта заключения совета. Д.х.н. Бовин Н.В. и д.б.н. Лебедев Ю.Б. вносят предложения по корректировке формулировок в финальной части заключения)

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Я предлагаю Лебедеву и Бовину проверку корректности того, что предложат авторы. И тогда мы можем, дать срок, я считаю три дня, не больше.

Д.х.н. Бовин Николай Владимирович: Два.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Ну можно два дня. Что-что?

Д.х.н. Шапаронов Михаил Иванович: Ну да, два дня.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Два дня. Два дня, и тогда наше учреждение может составлять протокол нашего заседания с учётом исправленного проекта заключения.

Уч. секретарь, д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович: То есть завтра должно быть уже заключение исправленное.

Председатель, академик РАН Иванов Вадим Тихонович: Авторы учтут замечания, и сами внимательно посмотрят. И мы считаем, под таким бдительным надзором мы в итоге получим корректное заключение.

(Проходит голосование по проекту заключения. С учетом внесенных поправок заключение совета принимается единогласно)

Председатель диссертационного совета
академик РАН



Иванов В.Т.

Учёный секретарь диссертационного совета
доктор физ.-мат. наук

Олейников. В.А.