

**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 при ИБХ РАН**

**От 20 ноября 2019 года**

Защита диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

**Люкмановой Екатерины Назымовны**

**Структурные основы функционального многообразия трехпетельных белков  
человека и нейротоксинов змей**

Специальность: 03.01.03 – Молекулярная биология

Москва 2019 г  
СТЕНОГРАММА

Заседания Диссертационного совета Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 20 ноября 2019 года.

Заместитель председателя  
диссертационного совета

д. физ.-мат. н. Ефремов Р.Г.

Ученый секретарь диссертационного совета

д. физ.-мат. н. Олейников В.А.

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 6.

1. Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(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.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
5. Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
6. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
7. Академик. РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
8. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
9. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
10. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
11. Академик РАН	Лукьянов Сергей Анатольевич	(03.01.03)
12. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
13. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
14. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
15. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
16. Академик РАН	Свердлов Евгений Давидович	(03.01.03)
17. Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(02.00.10)
18. Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
19. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
20. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)
21. Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(02.00.10)

**Ефремов Роман Гербертович**

Повестка дня – защита Люкмановой Екатерины Назымовны, докторская диссертация на тему «Структурные основы функционального многообразия трехпетельных белков человека и нейротоксинов змей». Вопрос о кворуме.

**Олейников Владимир Александрович**

Всё в порядке.

**Ефремов Роман Гербертович**

Ученый секретарь докладывает, что кворум у нас есть. И мы можем начинать работу.

Защита состоится на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.03 «Молекулярная биология». Научный консультант академик Михаил Петрович Кирпичников.

Официальные оппоненты по диссертации Кочетков Сергей Николаевич, академик, доктор химических наук (д.х.н.), заведующий лабораторией молекулярных основ действия физиологически активных соединений Института молекулярной биологии.

Костров Сергей Викторович, также присутствующий здесь, член-корреспондент РАН, д.х.н., директор Института молекулярной генетики РАН.

Шидловский Юлий Валерьевич, доктор биологических наук (д.б.н.), профессор РАН, заведующий лабораторией регуляции экспрессии генов Института биологии гена.

Ведущие организации.

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН.

Владимир Александрович, сообщите, пожалуйста, по материалам.

**Владимир Александрович**

Материал лично смотрел. Люкманова Екатерина Назымовна окончила в 1999 году с отличием Московский физтех по специальности «Прикладные математика и физика». В 2005 году диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 «Молекулярная биология». Далее работала с 1999 по 2008 год младшим научным сотрудником. С 2008-го по 2009 год – научный сотрудник. С 2009-го по 2017-й – старший научный сотрудник. Всё это время это было в лаборатории биоинженерии белка нашего института ИБХ РАН. С 2017-го по 2018 год она старший научный сотрудник группы биоинженерии нейромодуляторов и нейрорецепторов нашего института. С 2018 года по настоящее время ведущий научный сотрудник группы инженерии нейромодуляторов и нейрорецепторов белка нашего института. Работа выполнена у нас в лаборатории биоинженерии белка в группы биоинженерии нейромодуляторов и нейрорецепторов отдела биоинженерии нашего института.

По теме диссертации опубликовано 30 работ в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертации. Из них четыре обзора, три патента (три патента вне этих 30). Объявление о защите, автореферат, диссертация размещены на сайте ВАК вовремя, а именно 15 августа этого года, и все необходимые документы в деле имеются.

**Ефремов Роман Гербертович**

Уважаемые коллеги, есть ли у кого вопросы по личному делу соискателя? Всё ли в порядке? Вопросов нет. Тогда слово предоставляется соискателю. Екатерина Назымовна, в вашем распоряжении 40 минут, чтобы представить основные результаты работы. Пожалуйста.

**Люкманова Екатерина Назымовна, диссертант**

*(Излагает основные положения диссертационной работы)*

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо. Вопросы, пожалуйста.

**Деев Сергей Михайлович**

Спасибо большое за очень информативный доклад. Для меня было так много информации. Первый и третий доклады, когда вы рассказываете про Lysx1 молекулу, и были три графика по константам взаимодействия с рецептором. Я бы хотел, чтобы вы напомнили, сколько там в ммоль, мкмоль, нмоль.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Микромолярная активность и обратимое связывание.

**Деев Сергей Михайлович**

Да. И потом у вас был переход к тому, что вы сделали усеченный (truncated) однопетельный вариант. И он тоже показал взаимодействие. Упало ли? И если упала, то насколько константа взаимодействия с рецептором?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Она не упала. В пределах погрешности такая же. То есть полностью имитирует свойства природного белка.

**Деев Сергей Михайлович**

Спасибо.

**Ефремов Роман Гербертович**

Кривая там была отличающаяся, если я помню.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Во-первых, моя диссертация больше трех месяцев висит на сайте. Всё это время мы продолжали работу. И мы набрали статистику, и мы видим, что, в общем активность схожая.

**Свердлов Евгений Давидович**

Скажите, пожалуйста, я как-то не уловил, в чем функциональный смысл трехпетельности. Как-нибудь эти петли взаимодействуют между собой, помогают друг другу? Что произойдет, если препятствовать этому взаимодействию?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Они между собой никак не взаимодействуют. Я думаю, что именно в этих петлевых участках, – судя по нашим данным и данным, что есть в литературе по другим трехпетельным белкам, – как раз содержатся активные сайты этих белков. Это может быть первая петля, вторая петля, третья. Часто бывает так, что при взаимодействии с мишенью какая-то из этих петель играет ключевую роль, центральную, но в то же время видно по моделированию, потому что на данный момент нет ни одной структуры никотинового рецептора, решенной либо крио, либо x-гау, в комплексе с такими белками, именно эндогенными белками, и даже с токсинами тоже нет. Но судя по тому, что мы видим по моделированию, остальные петли при наличии главного сайта связывания играют вспомогательную роль. То есть они либо взаимодействуют с мембраной вокруг рецептора, либо они как-то поддерживают рецептор рядышком. То есть это дополнительные сайты, которые улучшают афилность, скажем так. Но между собой, я думаю, они вряд ли взаимодействуют, потому что никаких предпосылок для этого нет ни в литературе, нигде.

**Ефремов Роман Гербертович**

Если позволите, я бы хотел продолжить вопрос, потому что этот момент тоже меня давно занимает, и я вам не раз уже этот вопрос задавал. Более того, в литературе уже давно идет дискуссия, поскольку этот трехпетельный фолд был отобран в ходе эволюции, потому что есть белки, те же кардиотоксины, которые на другие мишени совсем действуют.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Но теми же петлевыми участками.

**Ефремов Роман Гербертович**

Да. Показали много интересных данных по взаимодействию с ацетилхолиновым рецептором, с разными сайтами, разные белки, разная конформационная подвижность. Сейчас, как Вы чувствуете, все-таки можно предложить на рациональной основе эту идею некоего супертоксина, направленного на конкретную мишень? Что у нас есть центральное ядро, прошитое дисульфидами – это некий каркас. На него мы навешиваем функционал. Центральная петля очень важна. Как ее спроектировать, эти детерминанты, чтобы они действовали на конкретный рецептор, без предварительного знания, то есть без уже подтвержденных в эксперименте каких-то функциональных ответов? Как вы считаете, вышли мы на тот уровень, когда мы можем на базе этого трехпетельного типа укладки создавать какой-то желаемый функциональный токсин?

Если у вас есть какие-то предпосылки и данные о том, что именно этот петлевой участок... Не обязательно петлю на самом деле пересаживать, я так думаю. Может быть, миметик какой-то?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Конкретно такая конфигурация может обладать некой активностью. В принципе, вы можете спокойно этот фолд пересаживать. А если у меня нет никаких предпосылок? Мне важно на какой-то рецептор подействовать. В случае никотинового рецептора нейронального типа это центральная петля. Вы ее пересаживаете, и вот у вас получается направленная активность по отношению к нейрональным рецепторам. У нас были попытки более тонко делать регуляцию нейрональных рецепторов разного типа, потому что это не только  $\alpha 7$ -рецептор, это и  $\alpha 3\beta 2$ ,  $\alpha 4\beta 2$ . Так просто анализом центральных петель токсинов, которые уже известно как действуют, например, на  $\alpha 3\beta 2$ -рецептор, не получается пересадить. То есть, видимо, есть еще какие-то остатки например, из других петель, которые важны для взаимодействия с тем или иным типом рецепторов. Я думаю, это станет более ясно и легче предсказывать такие вещи, когда все-таки появится структура никотинового рецептора, потому что без нее понять отличие одного рецептора от другого, в чем там разница, и предсказывать именно эти фармакофоры очень сложно.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо. Ждем структуру.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Очень ждем.

**Ефремов Роман Гербертович**

Вопросы дальше.

**Уткин Юрий Николаевич**

Спасибо за хороший доклад. У меня вопрос касается SLURP. Вы показали, что Lynx1 взаимодействует с мозговыми структурами, с рецепторами, находящимися в мозге, а SLURP вроде как-то на периферии. Но поскольку белки-то достаточно родственные, может ли он проникать через гематоэнцефалический барьер и оказывать какое-то влияние на рецепторы мозга?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Спасибо большое за прекрасный вопрос. На данный момент неизвестно, есть ли он в мозге. У нас в планах есть это проверить, как и в случае Lynx1, проникает ли он через гематоэнцефалический барьер, но, опять же, это будут эксперименты на мышах, а не на человеке. Тут можно такую вещь заметить. Я уже показала действие SLURP-1 на ток через рецептор. То есть рецепторы, которые представлены в мозге,  $\alpha 7$ -рецепторы, их активность связана именно с ионотропной активностью. То есть это открытие канала. И мы показали, что действительно SLURP-1 может влиять на ток через канал этого рецептора. Но эта активность значительно ниже и меньше, чем его активность

по отношению к эпителиальным клеткам. То есть там разница в три порядка. Он регулирует рост эпителиальных клеток в наномолярном диапазоне, а ток через канал рецептора ингибирует в микромолярном. То есть, даже если он туда проникает, например, то вряд ли он как-то там влияет на функцию рецептора. Потому что мы рассчитывали концентрацию, которая присутствует в норме у человека и у животных в крови. Это наномолярный диапазон. Соответственно, даже если он и проникает через барьер, то, в общем-то, он никакого влияния не оказывает на рецепторы мозга. Не должен по крайней мере. Мы предполагаем, что это так.

**Овчинникова Татьяна Владимировна**

Большое спасибо. Прекрасный доклад, огромная работа. У меня вопрос по перспективе практического применения SLURP-1. У него есть собственная физиологическая роль, он активирует внутриклеточные сигнальные каскады. Был у вас прекрасный слайд, где показано, в каком количестве различных физиологических процессов он участвует. Как вы видите перспективу применения его в качестве противоопухолевого препарата? Потому что понятно, что его повышенная концентрация или попытка воздействовать селективно на опухоль вызовет бурю побочных событий в организме.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Спасибо за прекрасный вопрос. Вообще, мы уже всю эту тему разрабатываем в рамках ЦНТИ, который создан в ИБХ. Мы исследуем действие SLURP-1 на раковые клетки. Мы уже подошли к экспериментам на животных. Также мы работаем по определению активного сайта и по возможности создания различных миметиков SLURP-1. На тему бури, я не думаю, что будет какая-то буря. Дело в том, что уже показано на очень многих карциномах и разными группами, что действительно у больных раком экспрессия SLURP-1 значительно снижена, то есть ее там практически нет, а концентрация в крови наномолярная. Эффективность, с которой SLURP ингибирует рост опухолевых клеток, наномолярная. То есть ощущение такое, что если мы восполним эту нехватку SLURP-1 в организме, причем в небольшом диапазоне, то есть не в микромолярной концентрации, а наномолярной, то, возможно, это затормозит рост опухоли. У нас такая идея, и мы ее планируем проверить. Что мы сделали в рамках ЦНТИ? Мы исследовали его иммуногенность, и он не иммуногенен. В принципе, это ожидаемо. Иммуногенность мы проверяли на введении больших концентраций SLURP-1. Этот эффект, скорее всего, не будет возникать. На тему других бурь – время покажет.

**Миков Александр Николаевич**

Спасибо большое за интересный доклад. У вас на первом слайде, где много разных животных, все молекулы, которые там представлены на вступительном слайде, их можно разделить на токсины и какие-то белки, которые помогают развитию, то есть эндогенные модуляторные белки. А есть ли какие-то данные в литературе о том, с эволюционной точки зрения какие-то предположения, кто из них мог раньше появиться, а кто позже?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Спасибо большое за вопрос. На данный момент всё это еще находится на стадии дискуссии. Буквально в этом году вышло несколько обзоров – наверное, обзора три, – которые обсуждают тему эволюционного развития, что было сначала: токсины или эндогенные белки. Тема обсуждается, муссируется. Пока прицельных исследований не проведено. Пока всё еще на уровне рассуждений. Но основная гипотеза – это то, что токсины были позже, что они симитировали активность и свойства эндогенных белков, действуя на те же самые мишени, приобрели какие-то свои свойства, которые позволили необратимо взаимодействовать, более эффективно ингибировать эти рецепторы. Потому что все эндогенные белки взаимодействуют в

микромольном диапазоне, и они все обратимо связываются. То есть их токсичность, грубо говоря, никакая. А нейротоксины, наоборот, связываются все необратимо. Как правило, это наномольная активность. И есть еще интересное наблюдение. Эндогенные белки, по крайней мере которые мы видели, – в нашей группе изучаем уже много таких белков, уже семь белков в работе, – они все имеют не четыре дисульфидных связи, а больше. То есть у них четыре дисульфидных связи стабилизируют ядро, а еще есть дополнительная дисульфидная связь, которая первую петлю стабилизирует, вторую, третью. А все токсины, которые такие, хорошо действующие, скажем так, у них, например, нет, как правило. Есть редкие исключения, буквально 1-2 примера. В первой петле они содержат дисульфидную связь. Есть один пример WTX, слабый токсин, он на то и слабый, называется слабым (второе название weak toxin), потому что он проявляет микромольную активность. У него есть дисульфид в первой петле. У остальных токсинов этого нет. И есть предположение, выдвинуто, что, возможно, когда происходила эволюция, то по крайней мере дисульфид в первой петле, он исчез, и он был нужен для того, чтобы токсину стать еще более активным. И в принципе на WTX это хорошо видно. У нас был эксперимент, когда мы специально восстанавливали дисульфидную связь в первой петле, и действительно токсин становился не на порядок, но заметно активнее. Только такой комментарий на тему, как происходила эволюция. Но, скорее всего, токсины были после, потому что это уже такие имитаторы. Более того, у самих змей, известно, у них есть трехпетельные регуляторные белки. То есть у них есть трехпетельные белки в яде, в glandax, а в то же время у них есть и трехпетельные эндогенные белки. Но функция их на данный момент тоже неизвестна. То есть люди описывают их наличие, а что они делают в организме, пока неизвестно.

**Ефремов Роман Гербертович**

Еще вопросы?

**Свердлов Евгений Давидович**

Связано с последним выводом. Там у вас промелькнула на слайде гипотеза о том, что где-то на раковых клетках идет межклеточная сигнализация с помощью экзосом. Я правильно понимаю?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Нет, не было экзосом.

**Свердлов Евгений Давидович**

Когда шарики из одной клетки в другую клетку – это экзосомы?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Мы не характеризовали, что это именно экзосомы. Мы показали, что есть запас внутриклеточный, с помощью конфокальной микроскопии. Но конкретно на маркер экзосом мы, к сожалению, не окрасили, хотя надо было бы.

**Реплика из зала:** Слово «экзоцитоз» упомянуто.

**Свердлов Евгений Давидович**

То есть это чисто гипотеза, никаких экспериментальных подтверждений нет?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Этот эффект пропадает при обработке клеток брэфельдином А (это ингибитор экзоцитоза), то есть это косвенное доказательство. И плюс, данные по вестерн-блоту, где мы видим, что после того как мы клетки отработали рекомбинантным препаратом SLURP-1, отмыли их, сменили им среду, и начинаем засекавать время и наблюдать, сколько появляется SLURP-1 в неклеточной среде. И мы видим, что через пять минут уже больше, через час уже заметно больше, через четыре часа, через 24 часа огромное количество. Это явный показатель того, что он секретируется, потому что

больше взяться неоткуда в культуральной среде, кроме как секретироваться изнутри клетки. Но вообще надо было нам прокрасить и на экзосомы. Спасибо за замечание.

**Ефремов Роман Гербертович**

И я еще себе один вопрос позволю. Просто очень интересная работа. Правильно ли я понимаю, что никотиновый ацетилхолиновый рецептор – это единственная мишень всех этих трехпетельных белков, о которых вы рассказываете сейчас?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Не совсем так. Она единственная мишень видимо для SLURP-1. По крайней мере других мишеней ни мы, ни другие группы не обнаружили. А в случае других белков, например, SLURP-2 и Lynx1, они также могут взаимодействовать с мускариновыми рецепторами. И в случае SLURP-2 мы даже показали, что, взаимодействуя с мускариновым рецептором, он имеет некую свою функцию в регулировании роста клеток эпителия.

**Ефремов Роман Гербертович**

Рецепторы, скажем так, одного типа?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Нет, это разные типы. Никотиновые – это лиганд-зависимые ионные каналы, а мускариновый рецептор – это белки семейства GPCR. То есть это вообще абсолютно два разных класса.

**Ефремов Роман Гербертович**

Получается, что белки с одним фолдом, с одним типом укладки, могут настолько по-разному мембранную мишень возбудить, как-то ее активировать, что каскады сигналинга идут совершенно по разным путям?

**Ефремов Роман Гербертович**

В принципе, могут. Спасибо. Екатерина Назымовна, присаживайтесь пока.

Обычно при рассмотрении кандидатских диссертаций согласно протоколу мы заслушиваем научного руководителя. У докторской научного руководителя нет, но есть научный консультант. Если, Михаил Петрович, вы хотите несколько слов сказать как научный консультант? Это необязательно. В докторской диссертации своя процедура.

**Кирпичиков Михаил Петрович**

Екатерина Назымовна, что касается сутевой части диссертации, она изложила всё очень детально, с моей точки зрения, может быть, даже какие-то вещи чересчур детальные были заложены для доклада. Я хочу сказать просто о ней как о руководителе группы. И это очень важно для человека, который защищает докторскую диссертацию. Человек чрезвычайно энергичный, человек, который может зажечь народ, сама договориться в наших нелегких условиях о работе на криоэлектронном микроскопе, и в России, и за рубежом. В общем, в этом плане она является очень-очень перспективным исследователем, способным организовать и решать крупные проекты.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо. Теперь слово для ознакомления членов совета с отзывом ведущей организации предоставляется Владимиру Александровичу.

**Олейников Владимир Александрович**

Тут сейчас некоторые изменения. Сейчас приводится еще заключение той организации, в которой выполнялась данная работа. Заключение Института биоорганической химии, где выполнялась работа, подписана Габировым. Естественно, здесь отражены вопросы актуальности данной диссертации, темы исследования, описано, где она работала в период подготовки, утверждение темы приведено, научная новизна подчеркнута, приведены соответственно список публикаций

очень солидных, а именно 30 штук в хороших журналах, три патента. И подписано заключение изначально замдиректора Ямпольским, председателем коллоквиума Долгих, и утверждено директором института. Это что касается заключения организации, где выполнялась данная работа. Далее. Отзыв ведущей организации. Отзыв полностью положительный. Ведущая организация – это Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии». Что касается актуальности темы пишется, что актуальность обусловлена важной ролью, которую играют мембранные рецепторы, в частности никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, присутствующие в нервно-мышечных контактах, ЦНС и в другом. Разработка новых лекарственных препаратов, действующих на определенный тип рецепторов, требует глубокого понимания структурно-функциональных основ. И именно исследованию этих белков посвящена работа Люкмановой, что и определяет высокую степень актуальности. Подчеркивается новизна работы. Подчеркивается, что все результаты диссертационной работы являются приоритетными. «Новизна не вызывает сомнений» буквально написано. Люкманова внесла существенный вклад в фундаментальное исследование механизмов взаимодействия трехпетельных белков человека и нейротоксинов змей с никотиновыми и мускариновыми ацетилхолиновыми рецепторами. Общая характеристика работы. Структура достаточно обычна. Изложена на 288 страницах. 117 рисунков, 394 источника. Практическая ценность определяется тем, что в ней содержатся предпосылки для разработок новых лекарственных соединений. И наконец я подобрался к замечаниям по диссертационной работе. Пишется, что не лишена ряда недостатков, к которым можно отнести опечатки, пунктуационные ошибки, использование англицизмов и научного жаргона. Например, страница 107 – «выход нейротоксина в этой работе», страница 160 – рисунок, Log [концентрация] вместо Log [лиганд]. Третье: написание названий микроорганизмов следует писать курсивом. Страница 176 и словосочетание *in vitro* – пропало слово *vitro*. По тексту несколько раз встречается слово «фолд». Но указанные недостатки не носят принципиального характера и не снижают общей весьма положительной оценки работы. И в заключение: работа представляет самостоятельное законченное исследование, выполнена на высоком научно-методическом уровне. Автореферат и публикация соответствуют. Диссертационная работа Люкмановой Екатерины Назымовны соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней. И сам диссертант, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени д. б. н. по специальности 03.01.03 «Молекулярная биология». Обсужден и одобрен на совместном семинаре в лаборатории инженерной энзимологии и молекулярной биотехнологии, а также группы молекулярного моделирования. И составитель отзыва – Хренова, ведущий научный сотрудник, доктор физ.-мат. наук, руководитель группы молекулярного моделирования. Утверждено директором этого центра «Фундаментальные основы биотехнологии», это Федоров утвердил. Замечания практически несущественные.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо, Владимир Александрович. Екатерина Назымовна, вы хотите ответить на серьезные замечания ведущей организации?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Согласна со всеми замечаниями. Виновата, исправлюсь.

**Ефремов Роман Гербертович**

Владимир Александрович, поступили ли отзывы на диссертацию и на автореферат?

**Олейников Владимир Александрович**

Да, в совет поступили четыре отзыва на автореферат. Все четыре отзыва полностью положительные, замечаний нет, и я просто оглашу, кем они были подписаны.

Во-первых, отзыв с биофака МГУ, доцент кафедры биоинженерии, д.б.н., профессор РАН Соколова.

Далее. Довольно большой отзыв, много очень хороших слов, актуальная научная проблема. Подписано д.б.н., профессор, академик РАН, Зав. лаборатории физ.-хим. основ рецепции, Институт биохимической физики имени Эммануэля. Это Михаил Аркадьевич Островский подписал.

Далее отзыв. В работе получены новые знания. Имеет не только большое фундаментальное значение, но и в будущем будет иметь практическое применение. Подписано: Чупин, д.х.н., доцент, главный научный сотрудник лаборатории химии и физики липидов Центра изучения молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний, зав. Кафедрой биофизики МФТИ. Наконец, последний четвертый отзыв – это тоже положительный, без замечаний. Подчеркивается, что выполнено на высочайшем уровне научном и методическом, и подписано: член-корреспондент РАН д.б.н., профессор, зав. Лабораторией функциональной синаптологии, отдел исследования мозга ФГБНУ Научный центр неврологии Скребницкий.

Всё.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо. Уважаемые коллеги, теперь переходим к обсуждению диссертации. Слово предоставляется официальному оппоненту Кочеткову Сергею Николаевичу.

**Кочетков Сергей Николаевич**

Нет, сначала Костров. По алфавиту, пожалуйста.

**Ефремов Роман Гербертович**

У меня в документах так, но пожалуйста. Ваше право. Сергей Викторович, если вы готовы первым...

**Костров Сергей Викторович**

Конечно, академики вперед.

**Кочетков Сергей Николаевич**

В автореферате Костров первый.

**Ефремов Роман Гербертович**

Это внутренние дела оппонентов между собой.

**Костров Сергей Викторович**

Хорошо. Пойдем на встречу Сергею Николаевичу, тем более его сегодня поздравляли неоднократно уже.

Коллеги, у меня есть отзыв, я не буду его зачитывать. Я хотел бы поделиться теми впечатлениями, которые у меня остались после знакомства с этой работой. Сразу скажу, что работа мне очень понравилась, и я буду призывать членов совета голосовать в поддержку диссертанта.

Что я бы хотел сказать? Работа озаглавлена «Структурные основы функционального многообразия трехпетельных белков человека и нейротоксинов змей». У меня, на самом деле, такое мнение, что это название по крайней мере направленность работы характеризует лишь отчасти. На самом деле, направленность работы гораздо шире. И мне кажется, что сутью ее является попытка автора если не нарисовать *de novo*, то по крайней мере раскрасить красками картину того, как функционирует передача межклеточных сигналов по крайней мере в той ее части, которая базируется на ацетилхолиновых рецепторах, в первую очередь по работе на никотиновых ацетилхолиновых рецепторах. Соответственно, это очень важно и очень интересно. Эти рецепторы, как вы слышали из доклада и как мы все знаем, во-первых, они очень многообразны, во-вторых, широко представлены на самых разных типах клеток. И, по-видимому,

они являются одними из основных игроков на этом поле межклеточной сигнализации, в связи с чем понятно, что нарушение в работе системы этих рецепторов является причиной возникновения и развития целого ряда достаточно тяжелых патологий разного рода. Соответственно, это придает кроме фундаментальных в той работе, о которой мы сейчас слышали, еще и выраженную практическую направленность. При этом, на самом деле, речь идет о том, что эти патологии можно и нужно корректировать. И одним из направлений, которое может быть использовано для коррекции патологии, является разработка и создание специфических лигандов, которые модулируют функционирование никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, или ацетилхолиновых вообще, мускариновых рецепторов, как вы видели из работы. Соответственно, тут появляются трехпетельные белки. В данном случае в рамках этой работы это один из элементов. А задачей исследования, по крайней мере как я воспринимаю всё это направление – это характеристика системы в целом и подбор неких молекулярных ключей, которые позволили бы модифицировать функционирование этой системы, и, так или иначе, компенсировать происходящие в ней нарушения. Соответственно, появляются эти трехпетельные белки. Автор использовал целый ряд трехпетельных белков. Это и человеческие белки. Причем, что очень интересно, это и нейрональные трехпетельные белки, и не нейрональные трехпетельные белки, и не человеческие трехпетельные белки (из ядов по крайней мере двух кобр).

Соответственно, это некий набор инструментов, при помощи которого авторы пытаются найти ключи к функционированию этой системы. Соответственно, эти трехпетельные белки очень разные, которые использовались в работе, там их целый набор. Это единое семейство структурно родственных белков, но все они функционируют по-разному, и это заставило автора использовать разные методические подходы для того, чтобы характеризовать действие тех или иных белков. При этом можно выделить некую стратегическую направленность или некий стратегический подход, достаточно общий, который использовал автор.

Тут я бы хотел сказать, что первым элементом в этой работе, который, наверное, не прозвучал в докладе, явилось то, что для всех этих экспериментов необходимо было получить препаративное количество тех белков, которые исследовались. И это целый набор белков, плюс это не только эти белки, но это мутантные варианты, урезанные варианты, это варианты, которые связаны с введением радиоактивной метки. Их много. И это поставило перед автором очень сложную, на мой взгляд, техническую задачу, потому что необходимо было обеспечить гетерологическую экспрессию в микроорганизмах, очистку, фолдинг, получение всех этих белков. Причем учтите, все мы понимаем, белки маленькие, насыщенные дисульфидными связями. Вообще говоря, это каторжная работа. И, тем не менее, автор с ней успешно справился. И это первый шаг, который определил дальнейшее развитие работы.

В результате того, что эта часть работы была осуществлена, автор получил набор тех ключей или молекулярных инструментов, которые позволили дальше перейти к исследованию системы функционирования ацетилхолиновых рецепторов.

Дальше тоже было несколько шагов, которые можно подразделить и проследить эту работу. Потому что следующий шаг – это нацеливание трехпетельного белка на молекулярную мишень, это определение молекулярной мишени, с каким подтипом рецепторов эти белки способны взаимодействовать. Тут был использован, поскольку белки разные, рецепторы разные, целый ряд самых разных методических подходов: это и конкуренция с некими маркерными лигандами, это и аффинная экстракция, это и аффинная экстракция с использованием магнитных частиц, это и электрохимические эксперименты с использованием ооцитов, и так далее.

Должен сказать, что экспериментальный уровень работы очень высок, и методические подходы крайне разнообразны. И многие методические подходы разработаны авторами, и на них получены патенты. Вообще говоря, тут можно только порадоваться за автора и за тот научный коллектив, который использует такие методологические подходы.

Соответственно, следующим шагом, и очень важным, и результаты этого шага имеют огромную самостоятельную ценность, явилось определение пространственных структур целого ряда трехпетельных белков. Соответственно, теперь они доступны для всех тех людей, которые работают в этой области. Здесь в качестве основного подхода была использована ЯМР-спектроскопия. И теперь благодаря работе автора мы имеем то, что имеем, и мы имеем эти структуры.

Следующий шаг – это докинг, это молекулярная динамика, это предсказание и создание различных моделей рецептор-лигандного взаимодействия. И в данной работе эта часть была нацелена и направлена на то, чтобы предварительно локализовать функционально существенные районы в этих трехпетельных белках.

Мы из доклада слышали, как это делалось, и какие результаты были получены.

А дальше всё начинает развиваться по кругу, потому что сформулированы представления о том, какие области молекулы являются функционально существенными, а дальше сайт-направленный мутагенез, а дальше снова экспрессия, а дальше снова очистка, а дальше снова те подходы, которые использует автор на различных моделях для того, чтобы оценить результаты введенных изменений, и построить некую структурно-функциональную карту этих белков. Причем необходимо отметить, что в ряде случаев, особенно в тех случаях, когда просматривалась какая-то вероятность использования тех или иных в будущем вариантов белков в качестве прототипов средств, которые могли бы использоваться для коррекции патологических состояний, автор использует еще целый ряд различных систем для характеристики. Например, надо указать, наверное, на мышиную модель болезни Альцгеймера, которая была использована автором, на разного рода срезы переживающие различных участков мозга грызунов, на большую работу, которая была проведена на клеточных культурах. То есть всё это очень-очень многопланово.

Что в общем результате этой работы получилось, какие основные результаты работы автора можно вывести?

Несколько конкретных результатов. Определены пространственные структуры ряда трехпетельных белков (о чем я уже сказал). Локализованы ключевые функционально существенные области их молекул (о чем я тоже сказал). Впервые охарактеризованы ранее не описанные мишени Lynx1 и Lypd6. Предложены структурные модели лиганд-рецепторных взаимодействий. Детализированы механизмы, лежащие в основе противоопухолевой активности трехпетельных белков. Высказаны достаточно обоснованные предположения о тех молекулярных каскадах, которые возникают в опухолевых и нормальных клетках под действием этих лигандов. Получены новые данные о функциональной роли конформационной пластичности нейромодуляторов. Обнаружены и охарактеризованы растворимые формы нейромодулятора Lynx1... И так далее.

Как уже было сказано, диссертация изложена на 288 страницах. Ее результаты описаны в 30 работах. И в рамках такого небольшого обзора нельзя отметить все результаты. Их много, они существенные. На самом деле, это реально докторская работа, которая открывает новые перспективы. В связи с чем я бы хотел еще раз сказать, что, на мой взгляд, основной результат этой работы – это то, что эта картина функционирования рецепторов, о которых идет речь, и их взаимодействия с в данном случае лигандами, трехпетельными белками, она стала намного более

ясной в результате работы автора и того коллектива научных сотрудников, с которыми он работает. И, на самом деле, очень существенно то, что появились некие идеи в результате этой работы о том, какие возможны экспериментальные подходы для того, чтобы непосредственно вмешаться в функционирование этой системы, и в частности в плане коррекции патологий, которые возникают в результате нарушения функционирования системы ацетилхолиновых рецепторов. Это является ключевым результатом работы. Это и является тем, что делает эту работу не просто набором исследований, связанных с характеристикой неких представителей единого семейства структурно-родственных белков. Это докторская работа, которая проясняет функционирование принципиально важной ключевой системы, и имеет кроме фундаментального значения еще и выраженные практические перспективы. Я считаю, что это очень хорошо. И будет хорошо, если таких работ будет больше. И я хотел бы сказать, что работа мне очень понравилась как рецензенту, и всячески призываю поддержать диссертанта.

В конце концов, заключение.

Замечания. Реально замечаний по работе у меня существенных нет. Что я хотел отметить: мне показалось, в изложении результатов присутствует довольно значительная фрагментарность. Это же показалось мне и при прослушивании доклада. Что, наверное, логично изложено некими короткими и компактными главами. Но наложение этих глав в какой-то момент одну на другую затрудняет понимание картины в целом. В докладе, мне казалось, это тоже заметно. Но, во-первых, это не умаляет достоинство работы. Во-вторых, там есть раздел, который называется «Заключение», в котором это в значительной степени снято. Там дана общая картина, и разложено, каким образом те или иные результаты в эту картину вписываются. Поэтому это в значительной степени ослабляет то замечание, которое я бы хотел сделать.

В остальном работа очень хорошая, на очень высоком экспериментальном уровне, и нацелена на действительно исследование крупного биологического явления. Получены существенные научные результаты. Получены перспективы вмешательства в эту систему с целью коррекции ее патологических состояний.

Суммируя сказанное, диссертационная работа Люкмановой Екатерины Назымовны выполнена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне, несомненно, является научным достижением, имеющим большое фундаментальное значение и практический потенциал. Выводы обоснованы и полностью соответствуют полученным результатам. Автореферат соответствует содержанию диссертации, а сама диссертация полностью отражена в научных публикациях автора. Таким образом, диссертационная работа Люкмановой «Структурные основы функционального многообразия трехпетельных белков человека и нейротоксинов змей» полностью соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней (далее указаны нормативные документы, в которых это описано), предъявляемых к диссертации на соискание ученой степени доктора, а ее автор Люкманова Екатерина Назымовна заслуживает присуждения искомой ученой степени д. б. н. по специальности «Молекулярная биология». Спасибо.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо, Сергей Викторович. Екатерина Назымовна, там прозвучало общее замечание. Согласны или хотите подискутировать?

**Реплика из зала:** Оно очень незначительное.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Конечно, согласна.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо.

**Кочетков Сергей Николаевич**

*(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)*

Очень хорошо, что Сергей Юрьевич выступил передо мной. Он так себе замечательно изложил. И я поэтому могу рассказать о своих впечатлениях об этой работе, которая, безусловно, мне понравилась.

Я отнюдь не являюсь специалистом в области тех вещей, которые здесь излагались, в плане нейронауки, поэтому наибольшее впечатление на меня произвела сложность всей этой системы, которая была продемонстрирована Екатериной Назымовной в полном блеске.

Даже если мы вспомним первый слайд, который нам показывали: там была масса организмов, масса примеров трехпетельных белков, масса рецепторов. В целом, казалось бы, несмотря на то, что эти трехпетельные белки экспрессируются в разных тканях, ведут себя совершенно по-разному. И в этой диссертации было показано, что, мало ли, никотиновых рецепторов так много, они естественны для нервного импульса, их основная задача. Все нейро-вещи, и даже развитие рака в эпителиальных клетках.

Эта диссертация – это пример попытки разобраться в этой ситуации. Удалась ли она полностью? Нет, конечно. Да и невозможно разобраться в этом. И очень много было работ сделано до этого, и мы сделаем еще много работ. Понимание этих всех процессов постепенно становится лучше, но всё равно мы от понимания далеки.

Согласен полностью с тем, что сказал Сергей Викторович. Но я бы сказал, что разбор этих конкретных вещей с конкретными белками не менее важен, чем те концепции, которые Екатерина Назымовна выдвигает, потому что из набора маленьких-маленьких шагов и складывается, в конце концов, картина.

Мне как молекулярному биологу, наверное, ближе структурная часть этой работы. Я тоже хотел об этом сказать, что разработка методик выделения этих белков – это очень большой труд, если учитывать дисульфидные связи и все эти вещи. В результате Екатерина Назымовна не только справилась с этим, но создала возможность не только работать самой, но и для большого круга людей теперь существует субстрат, который могут использовать в экспериментах самого разного рода.

Далее работа, которая была проделана, позволила охарактеризовать взаимодействие лигандов этих трехпетельных белков с рецепторами достаточно детально. То есть определены участки взаимодействия, определены критические аминокислоты. Здесь понадобился весь арсенал современных методов белковой инженерии. И успешно были получены соответствующие результаты.

Теперь о белке Lynx1, который, наверное, занимает одно из центральных мест в этой работе. Этот белок – это пример того, что в разных тканях, в разных органах одни и те же белки могут вести себя совершенно по-другому. И действительно, если в мозге этот белок конкурирует за взаимодействие с рецептором, и конкурирует с амилоидным пептидом, то в эпителии он запускает каскады, которые относятся к онкогенезу.

Единственное у меня здесь замечание по этому поводу. Мне показалось, что Lynx1 сначала разбирается в мозге, а потом идет разбор других белков, а к концу опять возвращается к Lynx1, но теперь уже в других тканях. Но мне показалось, что, может быть, лучше было бы Lynx1 разложить целиком, а потом возвращаться к другим. Но это на мой вкус. Может быть, я недостаточно хорошо знаком с этой тематикой. Но, во всяком случае, я должен сказать, что после чтения этой работы мне многое стало более понятно. И мне кажется, что эта работа действительно знаменует собой

достаточно большой шаг. Екатерина Назымовна в своей работе опиралась на многих предшественников, которые в том числе в этом институте, я бы сказал, классиков этих работ по взаимодействию токсинов с рецепторами. И эта работа – это действительно новый этап. И очень приятно, что такой молодой ученый уже полностью вложился как зрелый исследователь. И я совершенно уверен, судя по публикациям, по всему, что Екатерина Назымовна ожидает очень хорошее, я бы сказал, даже блестящее будущее в науке.

Я призываю всех членов ученого совета голосовать за присуждение ученой степени. Позволю себе тоже прочитать сакраментальную фразу.

По своей актуальности и новизне представленного материала, уровне изложения, а также по теоретическому, практическому значению работа Люкмановой полностью отвечает критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней. Утверждено Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 с изменениями (Постановление Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, 02.08.2016 № 748, 29.05.2017 № 650). А сам автор Люкманова Екатерина Назымовна, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени д. б. н. по специальности «Молекулярная биология».

Приветствую диссертанта. Уверен, что мы все выступаем, чтобы она получила искомую степень.

**Ефремов Роман Гербертович**

По-моему, в завуалированной форме прозвучало замечание. Екатерина Назымовна, готовы на него ответить?

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Замечание касалось больше способа или манеры изложения материала. Я об этом долго думала, потому что был выбор: либо всё по белкам раскладывать, либо по тканям. И все-таки я выбрала вариант, когда мы сначала говорим о трехпетельных белках из мозга отдельно, а потом про трехпетельные белки из эпителия.

**Реплика из зала:** Это право автора.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Так получилось.

**Ефремов Роман Гербертович**

Слово предоставляется официальному оппоненту Шидловскому Юлию Валерьевичу.

**Шидловский Юлий Валерьевич**

*(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)*

Уважаемые коллеги, я, наверное, не буду долго повторять всё, что здесь уже сказано, поскольку работа действительно фундаментального, обширного характера, и хочется ее использовать в качестве примера для всех, чтобы можно было увидеть пример фундаментальной работы, который начинается с получения рекомбинантных исследуемых белков, затем изучается их структура, молекулярный механизм действия, и уже диссертант доходит до получения каких-то практических применений этих полученных знаний. Конечно, эта работа вызывает только восхищение, потому что является образцово-показательной для фундаментальных наук.

Не буду повторять подробно, что было сделано. Хотел бы высказать два своих замечания. Я долго их искал, но принципиальных найти не смог. Есть два биологических, по которым я хотел услышать мнение диссертанта.

В раковых клетках под действием SLURP-1 и Lynx1 показано было диссертантом, что активируется ряд факторов транскрипции и происходит изменение профиля экспрессии генов. В то же время для Lynx1 в мозге диссертант говорит о том, что его действие связано с потенцированием АС никотинового рецептора, и, может быть, здесь тоже можно предположить,

что на самом деле Lynx1 тоже в мозге каким-то образом смещает профиль экспрессии генов, и это уже вторичным способом влияет на синаптическую пластичность, которая была обнаружена диссертантом.

И второй вопрос. SLURP-1 в раковых клетках действует по метаболитропному механизму, как было показано диссертантом. Хотелось услышать мнение Екатерины Назымовны, как она представляет действие Lynx1 в раковых клетках, какой механизм она может предположить.

И я хотел бы выразить восхищение этой работой, и закончить тем, что полученные Люкмановой Екатериной Назымовной результаты не вызывают сомнений, представленные в работе выводы обоснованы, автореферат соответствует содержанию диссертации, сама диссертация полностью отражена в многочисленных научных публикациях автора. Диссертация полностью соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней, а ее автор Люкманова Екатерина Назымовна заслуживает присуждения искомой ученой степени д. б. н. по специальности «Молекулярная биология». Спасибо за внимание.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо. Екатерина Назымовна, пожалуйста, вам слово для ответа.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Спасибо большое за ценное замечание. У меня есть ответ на один из вопросов, даже в графическом виде.

Что касается возможности влияния Lynx1, связанности его эффекта в мозге с изменением транскрипции генов. Да, действительно известно, и это описано, что долговременная потенциация зависит, и ее можно регулировать, изменяя транскрипцию тех или иных генов. И мы думаем, что действительно эффект, который мы наблюдаем, особенно не те, которые ежеминутно, то есть мы в срез, омывающий мозг, добавили Lynx1 и посмотрели эффект, а именно те эффекты, которые мы наблюдаем у животных через две-три недели после приема препаратов, скорее всего, они однозначно связаны именно с изменением профиля генной экспрессии тех или иных белков, рецепторов, задействованных в регуляции холинергической системы. И на данный момент мы проводим эти исследования. Пока мы не дошли до конца, но то, что мы видим на данный момент, уже действительно меняется профиль экспрессии и ацетилхолинэстеразы, и ряда никотиновых рецепторов, более того, и экспрессия самого эндогенного Lynx1 меняется под действием рекомбинантных препаратов. То есть, да, эффект, который мы наблюдаем под влиянием Lynx1 на когнитивную функцию также связано с изменением генной экспрессии в мозге.

И второй вопрос, который прозвучал. Действие Lynx1 в раковых клетках связано с метаболитропным сигналингом. На момент написания диссертации этих результатов еще не было, но к защите мы эти данные получили. Так же, как и в случае со SLURP-1, если заблокировать в клетках экспрессию природного никотинового рецептора 7-го типа, а потом попытаться восполнить экспрессию этого рецептора, но в рецепторе произвести замену G-белок связывающего сайта, то в этом случае не происходит восстановления антипролиферативной активности Lynx1.

Более того, если посмотреть на те данные, которые мы получили с помощью ингибиторного анализа по различным киназам, участвовавшим в сигналинге, мы тоже видели намеки на метаболитропный путь. Там тоже задействованы и IP3-рецепторы, и PI3-киназа. И всё это вместе действительно говорит о том, что эффект Lynx1 на раковых клетках также связан с активацией сигнальных каскадов по метаболитропному механизму. Надеюсь, я ответила на ваши вопросы.

**Ефремов Роман Гербертович**

Вы удовлетворены?

**Шидловский Юлий Валерьевич**

Да, конечно.

**Ефремов Роман Гербертович**

Спасибо.

Уважаемые коллеги, теперь переходим к общей дискуссии. Кто хотел бы высказаться по результатам, изложенным соискателем?

**Деев Сергей Михайлович**

Аудитория так впечатлена таким интересным и насыщенным докладом, что все молчат. А если никто не будет выступать, это совершенно неправильно.

Дорогие коллеги, слушали прекрасный доклад. Я очень уважаю физиков. У меня в лаборатории работают от ветеринаров до генетиков, общих биологов. Много выпускников Физтеха. Меня восхищает их легкость адаптации к новым идеям и к новым знаниям, и умение работать в этой области. И то, что мы сегодня видели – прекрасная работа. Выпускница Физтеха сделала очень многоплановую работу, очень насыщенную самыми разнообразными экспериментами. И меня восхитил доклад, ответы на вопросы блестящие были. Человек владеет методологией из самых различных областей. Поэтому, по-моему, очень интересная работа, очень поисковая, но многое уже сделано, более чем достаточно, для квалификации доктора наук. Поэтому мое впечатление самое лучшее от этой работы, и я однозначно призываю всех голосовать за. Спасибо. Кто-нибудь еще хотел высказаться?

Предоставляем слово Екатерине Назымовне.

**Люкманова Екатерина Назымовна**

Всё мое завершающее слово сводится к благодарности всех тех людей, которые принимали участие в моей работе, которые меня поддерживали. В первую очередь хотела бы выразить свою благодарность Михаилу Петровичу Кирпичникову, моему научному руководителю, за постоянную поддержку, внимание, всестороннюю помощь, которая оказывалась на всем моем пути от студента. Потому что под его руководством я начала работать, еще будучи студенткой, потом была кандидатская, сейчас докторская. Спасибо большое за создание всех необходимых условий, человеческое тепло и поддержку.

Также хотелось бы выразить благодарность человеку, с кем мы начинали делать первые шаги по исследованию трехпетельных белков – это Виктор Ионович Цетлин и его отдел, это Игорь Евгеньевич Кашеверов, Юрий Николаевич Уткин. Мы с ними вместе когда-то начинали исследование этих трехпетельных нейротоксинов. Большое спасибо всем сотрудникам этих отделов.

Как уже отмечалось, и так оно и есть, структурная работа, которая составляет достаточно большую часть этой работы, была сделана в отделе структурной биологии Института, который возглавляет Александр Сергеевич Арсеньев. С ним мы тоже начинали работать, еще когда я была студенткой. В его отделе сделаны все пространственные структуры трехпетельных белков, построены все модели.

Спасибо большое Александру Сергеевичу, Роману Гербертовичу Ефремову, под чьим руководством строились эти модели, Чугунову Антону, Парамонову Александру, Минееву Константину, Шенкареву Захару. Я боюсь кого-то еще забыть. Андрея Царева. В общем, всем ребятам из этого отдела огромное спасибо.

Также я хочу выразить особую благодарность Алексею Валерьевичу Феофанову. Это человек, который для нас, для моей группы открыл новый мир клеточной биологии, то есть это человек, с помощью которого мы начинали все эти клеточные работы по SLURP-1, который научил нас всем

этим методикам. Мы работали с ребятами его лаборатории, это был Георгий Шаронов, это Мария Вячеславовна Остапова, Анастасия Ефременко. Всем большое спасибо.

Отдельное спасибо хочу выразить Сергею Александровичу Козлову и Сергею Геннадьевичу Кошелеву. Это люди, которые нас тоже поддерживали, и помогли провести часть экспериментов по исследованию белка Lypd6.

Отдельное спасибо целой группе больших ученых, а именно члену-корреспонденту Павлу Милославовичу Балабану, члену-корреспонденту Алексею Васильевичу Семьянову, члену-корреспонденту Владимиру Георгиевичу Скребницкому. Это те люди, которые фактически стояли у истоков, и которые научили нашу группу методам нейрофизиологии. Мы без них этого ничего делать не умели. Теперь, спасибо, они научили нас базовым навыкам. Мы делали эксперименты в их лабораториях. Теперь мы что-то умеем делать сами. Без них, конечно же, эта работа не состоялась бы.

Отдельное спасибо Александру Андрееву-Андреевскому, Анфисе Поповой и Жене Лагеревой, которая присутствует в зале, за помощь в проведении поведенческих тестов.

Отдельное спасибо хочу передать не присутствующим здесь зарубежным коллегам. Это и Владимир Долежал, и Дэниэль Бертран, и Мортон Томсен, и Петр Брежестовский, Стив Пиньёр, Ян Тиггарт. Это все те люди, которые помогали нам исследовать наши белки и на ооцитах, и на клеточных линиях, экспрессировавших мускариновые рецепторы, без них части работы не было бы.

И отдельную благодарность я хотела бы выразить лаборатории биоинженерии, которую возглавляет Дмитрий Александрович Долгих. Изначально работа начиналась в его лаборатории. За доброжелательное отношение, за поддержку. Очень было приятно работать с этими людьми, очень благоприятные и приветливые сотрудники лаборатории.

И отдельное спасибо, даже не знаю, как его выразить словами, моей группе. Это Михаил Шулепко в первую очередь, Дмитрий Кульбацкий и Максим Бычков. Это люди, которые всегда поддерживали все мои начинания, вплоть до того, что идеи, которые иногда рождались из ничего, ничем не подкреплялись. Ребята всегда меня поддерживали. Да, возможно, там была какая-то критика, но, тем не менее, они всегда зажигались, и мы вместе пытались делать новые для нас вещи, даже не имея по началу специальных знаний... Потому что, действительно, я закончила физтех, я не биолог по начальному образованию. Начинали искать литературу, смотреть. И все вместе, всем коллективом мы рождали то или иное направление. И без их поддержки и помощи этого ничего бы не состоялось.

И, конечно же, благодарю свою семью, которая здесь присутствует в полном составе. Это и Захар Шенкарев, и дети. Им, видимо, пришлось нелегко в последнее время, но мы все справились. Спасибо большое.

### **Ефремов Роман Гербертович**

За то у них такой пример перед глазами. Спасибо, Екатерина Назымовна.

Теперь, коллеги, мы приступаем к процедуре голосования. Для начала нам надо избрать Счётную комиссию. Предлагается Счетная комиссия в составе (без имен, отчеств) Лебедев, Ямпольский, Олейников. Кто за то, чтобы избрать счетную комиссию в этом составе? Кто за? Против? Воздержался? Принято единогласно.

Тогда объявляется перерыв на тайное голосование.

*(Проходит тайное голосование.)*

### **Ефремов Роман Гербертович**

Владимир Александрович, огласите, пожалуйста, результаты голосования.

**Олейников Владимир Александрович**

Прежде чем оглашать, я хочу всех членов ученого, диссертационного совета попросить не расходиться, потому что мы должны сейчас еще проект заключения посмотреть, и высказать свое мнение по проекту заключения. Бовин, к сожалению, отсутствует.

Комиссия счетная отработала, и вот результаты нашего анализа. Присутствовало на заседании 21 член ученого совета, роздано бюллетеней 21, оказалось в урне бюллетеней 21, из них за – 21, против и недействительно – нет. (Аплодисменты.)

**Ефремов Роман Гербертович**

Уважаемые коллеги, предлагаю утвердить протокол счетной комиссии. Кто за?

**Олейников Владимир Александрович**

Единогласно.

**Ефремов Роман Гербертович**

Против? Воздержался? Нет. Принято единогласно.

Теперь осталось нам утвердить проект заключения. Есть ли какие-то у кого замечания, коррективы, предложения по проекту заключения? Нет.

Тогда предлагаю открытым голосованием членов совета утвердить проект заключения. Кто за? Воздержались? Нет. Принято единогласно.

На этом заседание нашего диссертационного совета предлагаю считать закрытым. Всем спасибо. Диссертанта поздравляем.

Заместитель председателя  
диссертационного совета  
доктор физ.-мат.наук

Ефремов Роман Гербертович

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор физ.-мат.наук

Олейников Владимир Александрович

