

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
«16» сентября 2020 года

Защита диссертации **Минеевым Константином Сергеевичем** на тему:

**«РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ОЛИГОМЕРИЗАЦИИ
МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ»,**

представленной на соискание ученой степени
доктора химический наук

Специальность 02.00.10 – Биоорганическая химия

Москва – 2020 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 16 сентября 2020 года.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

В.Т. Иванов

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор физико-математических наук

В.А. Олейников

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 9.

1. Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2. Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
3. Член-корр. РАН	Липкин Валерий Михайлович	(03.01.06)
4. Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
5. Д.х.н.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
6. Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06)
7. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
8. Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
9. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
10. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
11. Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
12. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
13. Д.б.н.	Мурашев Аркадий Николаевич	(03.01.06)
14. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
15. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
16. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(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.	Шапаронов 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)

Председательствующий: Дорогие коллеги, доброе утро! Рад видеть вас после некоего перерыва, вызванного разными, самыми разными причинами. Мы можем приступить к работе. В повестке дня у нас единственный пункт, но пункт очень весомый – защита докторской диссертации Минеевым Константином Сергеевичем. Я надеюсь, у нас нет никаких предложений по поводу изменений повестки дня. Надеюсь. И посему я даю слово ученому секретарю для оглашения материалов личного дела.

Ученый секретарь: *(Кратко докладывает об основном содержании представленных соискателем документов)* Минеев Константин Сергеевич окончил в 2007 году Московский физико-технический институт. В 2010 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности «Биофизика». С 2005 по 2010 год – инженер-исследователь, с 2010-го по 2011-й – младший научный сотрудник, 2011-2014 – научный сотрудник, с 2014-го по настоящее время – старший научный сотрудник Лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии нашего института. Работа выполнена в Лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии нашего института. Научный консультант диссертационной работы – доктор химических наук, профессор Арсеньев Александр Сергеевич. По теме диссертации опубликовано 23 статьи в международных рецензируемых журналах, в том числе, два обзора. Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя, а именно 12 мая 2020 года. И все необходимые документы в деле есть.

Председательствующий: Я надеюсь, нет вопросов, уточнений. Я прав? По-видимому, я прав. Ну, что ж, Константин Сергеевич, вам слово для доклада. У вас 40 минут.

Соискатель (Минеев К.С.): Уважаемые члены совета! Уважаемые коллеги! Я рад представить вашему вниманию мою работу, посвященную развитию методов ЯМР-спектроскопии и их применению для исследования олигомеризации мембранных белков.

(Кратко излагает основное содержание диссертационной работы)

Председательствующий: Спасибо за доклад, который заслужил явное одобрение собравшихся. У кого есть вопросы? Кто хотел бы уточнить? Кто что не понял? Здесь не очень хорошо видно, поэтому активнее. И нужно к микрофону подойти, с тем чтобы это можно было стенографировать.

Чугунов Антон Олегович, к.ф.-м.н.: Вы рассказали, что получили 13 структур трансмембранных доменов, из которых некоторые скрещиваются ближе к краю мембраны, некоторые – по центру и там разные углы. И упомянули, что там как бы одно является активным состоянием, а другое – нет. Это значит, что для одного и того же рецептора могут быть как такие варианты образования димера, так и другие. И причем здесь тогда разный липидный состав? Понятно, что в эксперименте он был разный, но в природе-то он должен быть, наверное, примерно один и тот же. Если вот отступить от

точно полученных данных и попытаться более образно и понятно описать, как это переключение состояний происходит. Вы могли бы эту картину как-то нам рассказать?

Соискатель (Минеев К.С.): Да. Спасибо за вопрос. Он достаточно комплексный получился. Надо начать с того, что для тех белков, которые мы изучаем (это рецепторы тирозинкиназы), для них показано, что есть два состояния димера белка: это неактивное состояние без лиганда и активное состояние димера, которое образуется в присутствии лиганда. То есть, есть два состояния белка. В природе второе состояние белка, активное, возникает из-за связывания лиганда. При этом возникает ряд процессов: механические натяжения, изменения свойств мембраны и так далее, которые могут привести к этому переключению. В наших руках это переключение осуществлялось, у нас нет лиганда, у нас нет клеточного домена, оно осуществлялось за счет изменения состава мембраноподобной среды. Это не значит, что именно так это происходит в живой клетке. Это первая часть ответа.

Вторая часть ответа заключается в том, что на самом деле мембрана (и я думаю, вы это отлично знаете) не однородна. Там есть микродомены, которые отличаются как минимум по толщине и по параметрам упаковки липидов. И, в принципе, теоретически переключение состояния мембранного домена может возникать за счет миграции белка из жидкой мембраны в микродомены. Это один из вариантов.

Другой вариант можно предложить такой. Что в результате изменения состояния внеклеточного домена меняется структура трансмембранного домена, и вокруг него начинают возникать микродомены с отличными свойствами, и это меняет, например, взаимодействие между липидами и водорастворимыми доменами белка, которые также меняют свою структуру. То есть вариантов, как это может происходить, на самом деле, миллион. И есть гипотеза, которую выдвинул Эдуард Бочаров (я специально о ней не говорил, потому что она не моя), которая подразумевает липид-опосредованный механизм активации клеточных рецепторов вот такого типа. То есть передача сигнала возникает не из-за того, что у нас меняется некие механические силы, натяжение цепочек белка, а из-за того, что меняются свойства липидов в результате изменения структуры трансмембранного домена. Я ответил?

Чугунов Антон Олегович, к.ф.-м.н.: Спасибо.

Председательствующий: Прошу.

Водовозова Елена Львовна, д.х.н.: Скажите, пожалуйста, вот лет 30 назад был большой цикл работ, в которых было показано, что анулярный слой липидов в мембране (в природных мембранах), вокруг белков анулярный слой липидов обогащен сфинголипидами и даже гликофинголипидами. Ну, то есть очевидно, что создаются возможности для завязывания связей белок-липидных именно в приповерхностной зоне. В

связи с этим вопрос: вот ваша методология развиваемая, она подразумевает в принципе возможность и есть ли такая возможность учитывать вклад от липидов более сложной структуры, чем те фосфолипиды, которые вы перечислили?

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо большое за вопрос. Теоретически мы можем фактически использовать любые компоненты для приготовления мембраноподобных сред. В наших руках, например, мы тестировали сфингомиелин. Сфингомиелин отлично образует бицеллы, и мы можем встраивать белки в частицы со сфингомиелином и изучать взаимодействие между белком и сфингомиелином. Мы можем использовать и гликолипиды и ганглиозиды. Единственная проблема – это стоимость чистых компонент. То есть чтобы получить... У нас наше количество, для сравнения, – это миллиграммы. То есть десятки миллиграмм фосфолипида нам нужно, чтобы приготовить образец. А пять миллиграммов какого-нибудь ганглиозида ГМ-3 стоит совершенно космических денег, на самом деле. На самом деле, это была одна из идей того, что можно делать. И, возможно, мы это и будем делать. Единственное, я хотел бы отметить, что мы пробовали имитировать, например, микродомены клеточной мембраны, то есть делать бицеллы из сфингомиелина и холестерина. И, к сожалению, у нас ничего не получилось. Потому что они образуют огромные диски, происходит какая-то сегрегация компонентов, и малых частиц, которые применимы для ЯМР, у нас не получается.

Водовозова Елена Львовна, д.х.н.: Ну, вот, может быть, это будет неким ограничением все-таки метода. Дело не только в количествах требуемых веществ, а вот возможность формирования бицелл. Но, тем не менее. Ну, замечательно. Надо идти в этом направлении.

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо.

Председательствующий: Есть еще вопросы?

Болдырев Иван Александрович, к.х.н.: Константин Сергеевич, позволяет ли ваша методология увидеть скорость, с которой образуются димеры?

Соискатель (Минеев К.С.): Да. Такую работу мы тоже делали. При помощи ЯМР можно изучать кинетику процессов, равновесную кинетику. То есть это не неравновесная кинетика, когда мы стартуем с одного состояния и получаем на выходе другое, а реакция обратимая, и в спектрах ЯМР мы наблюдаем обменные сигналы в специальных сделанных спектрах, в экспериментах мы можем наблюдать обменные сигналы, которые возникают из-за того, что часть белков переходит из одного состояния в другое. И, спрогнозировав зависимость и интенсивность этих сигналов от времени, мы получаем фактически кинетику. То есть мы измеряли для одного белка – у нас получилось 30 миллисекунд. Это характерное время.

Болдырев Иван Александрович, к.х.н.: То есть по факту вы видите два состояния просто и в зависимости от ширины импульса можете отследить время, за которое они приходят один в другой.

Соискатель (Минеев К.С.): Есть несколько вариантов. У нас может быть несколько режимов процесса. Процесс может быть быстрым, то есть когда мы видим только одно состояние с усредненными параметрами. И тогда мы можем применить один набор методов, он известен в литературе, называется «измерение дисперсии релаксации». Может быть два состояния. Тогда это медленный процесс. И мы можем измерять напрямую переходы между этими формами. Все наши объекты, кроме одного, на самом деле, были в медленном режиме, и мы наблюдали по одному состоянию, по одному набору сигналов для каждого состояния и могли измерять кинетику переходов.

Болдырев Иван Александрович, к.х.н.: То есть у вас два временных окна: либо это миллисекунды, либо дни. Так?

Соискатель (Минеев К.С.): Нет. Либо это микросекунды (тогда это один набор сигналов), либо это как минимум миллисекунды или секунды (тогда это второй набор сигналов). 10-20 миллисекунд – это нижняя граница примерно, когда у нас получается два набора сигналов.

Болдырев Иван Александрович, к.х.н.: Спасибо.

Председательствующий: Николай Владимирович, у Вас был вопрос.

Бовин Николай Владимирович, д.х.н., член совета: Когда в начальной части вашего доклада вы говорили про димеризацию, вы упомянули про влияние метильных групп на этот процесс димеризации. Мне представляется это чрезвычайно важным. Но вы очень кратко об этом сказали. Это, соответственно, не вопрос мой, а просьба, может быть, чуть-чуть подробнее рассказать о влиянии метильных групп механизме: как метильные группы, почему именно на метильные группы и, если возможно это сказать, то метильные группы каких остатков имелись в виду.

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо за вопрос. Надо сказать, что то, что я рассказывал, – это, скорее, не изучение влияния метильных групп на димеризацию, а, скорее, использование данных о том, что происходит с метильными группами для анализа димеров. Да, нами было показано, что наибольшие отличия в результате димеризации наблюдаются по кинетике, по скорости вращения, по кинетике движения метильных групп. Это действительно так.

Я думаю, это объясняется достаточно просто. Если у нас белок водорастворимый, то его поверхность полярная. Соответственно, взаимодействие водорастворимых белков связано с образованием полярных контактов, чаще всего. Ну, или гидрофобных и полярных. Но полярных – в первую очередь. Потому что поверхность полярная. Если белок

мембранный, на его поверхности находятся в основном как раз именно метильные группы. То есть он богат: остатки лейцинов, изолейцинов, валинов, треонинов и так далее. И ближе всего к интерфейсу димеризации, интерфейсу взаимодействия находятся именно метильные группы. Именно поэтому мы наблюдаем максимальный эффект для этих групп. То есть, я не думаю, что здесь есть какое-то более глубинное объяснение этого процесса.

Однако, есть еще один момент. Это не часть моей работы и вообще я этим не занимаюсь. Но вот Эдуард Валерьевич Бочаров, у него есть идея насчет того, что метильные группы могут участвовать в образовании неканонических водородных связей с карбоксильными группами. Я не очень понимаю. Ну, для меня это не очень понятно. Потому что это далеко от наших классических представлений о том, как всё это происходит. Но есть какие-то работы, статьи (я не вдавался в детали), что действительно метильные группы могут иметь какую-то общую электронную плотность с карбоксильными группами, и это влияет на их скорость движения, и возникает такого рода достаточно странный, необычный контакт.

Председательствующий: Есть еще вопросы? Александр Габибович.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Константин, спасибо большое за такой глубокий ревью. В общем, замечательно, конечно, вы выполнили работу. Возможно, я со слуха, так сказать, не воспринял в должной форме. Но все-таки вы, конечно, занимаетесь одним из принципиальнейших биологических процессов, занимаетесь биофизическими методами – это вопрос передачи сигнала. И, конечно, к сожалению, Йосси Шлесинджер не получил до сих пор Нобелевскую премию. Человек, который открыл, собственно, суть димеризации. Поэтому с точки зрения биологии, биохимии этот вопрос, конечно, очень хорошо изучен.

И вот в связи с этим, поскольку вы будете распространять свою методологию, вероятно, и на менее изученные вопросы димеризации, у меня возникло, так сказать, соображение. Очень хорошо известно, при каких мутациях SH3 домены прекращают функционировать биологически и не передают сигналы. Вот я не услышал (возможно, я извинюсь, может быть, это у вас есть), старались ли вы работать с белками с заранее введенными этими мутациями, когда априори в биологической системе передача сигнала нарушена. Это первый такой вот вопрос. Ну, и второй вопрос связан: как вы учитываете (наверное, это невозможно сделать в вашей методике, но, может быть, вы это можете) посттрансляционные модификации. Ну, и потом будет третий. Спасибо.

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо большое за вопросы. Если можно, я со второго начну, потому что он проще. Мы стараемся учитывать посттрансляционные модификации простым способом: мы не берем объекты, где они есть. *(Смеются)*

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Сразу вскрыл ограничение.

Соискатель (Минеев К.С.): Ну, на самом деле, это ограничение частичное. Потому что в теории мы можем, конечно, получать наши белки в клетках млекопитающих или насекомых. Но это очень дорого.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Вы знаете, простите, я не могу критиковать, у вас прекрасная работа. Но всё, что касается «дорого», – это вообще не предмет обсуждения. Если это возможно и у вас ограничение – получение ваших белков в эукариотических системах, то просто надо обратиться в соответствующие лаборатории и их сделать.

Соискатель (Минеев К.С.): Это понятно.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Я понимаю, что надо кормить эукариотическую клетку азотом, но, тем не менее, значит, денег надо накопить. Так что давайте уберем это. В принципе это возможно. Да?

Соискатель (Минеев К.С.): В принципе это возможно. Но наши объекты мы используем специально. У нас есть эти мысли – как это делать, но пока мы стараемся ограничиться отдельными трансмембранными доменами или внутриклеточными доменами. А внутриклеточные домены не гликозилируются.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Да. Но я хочу обратить ваше внимание, что это очень тонкий момент.

Соискатель (Минеев К.С.): Мы понимаем. Именно поэтому мы ограничиваем нас самих в выборе объектов. То есть мы стараемся не выбирать те объекты, где наличие посттрансляционных модификаций может повлиять на интерпретацию результатов. Так, чтобы заведомо не делать то, что не имеет биологического смысла. Это по второму вопросу.

По первому вопросу – насчет мутаций. Опять же, для рецепторных тирозин киназ наша работа ограничивалась трансмембранными доменами и внутриклеточными примембранными регионами.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: То есть вы вот эти SH домены, собственно, не рассматривали.

Соискатель (Минеев К.С.): Да. Они слишком большие пока что. Пока мы не придумали, как это сделать. Но мы сделали другие вещи. Есть мутации в трансмембранных доменах, которые, известно, вызывают активацию белков. И эти мутации мы проверяли и смотрели, как именно структура наших белков меняется при введении этих мутаций. Это то, о чем я говорю в разделе про свободную энергию. То есть, в принципе, что-то похожее мы делали. Но в силу наших ограничений, я сразу сказал, еще во введении, что метод

ограниченный. И я напрямую сказал, в чем наши ограничения заключаются. К сожалению, это так.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Ну, рентген здесь тоже, так сказать. Ведь всё это невозможно рентгеном.

Соискатель (Минеев К.С.): Берут отдельные части, да.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Верхнюю часть, собственно, рецептора. Ну, хорошо. Тогда третий мой небольшой консьёрн. В моем понимании (здесь нет Александра Александровича Макарова, он единственный академик, нет, два академика-биофизика в нашем отделении, так что хорошо, что не слышит) все-таки микрокалориметрия, мне кажется, имеет преимущество. Вы так, так сказать, вашу таблицу изложили, ну, очень позитивно. Я вот считаю, что микрокалориметрия для меня является самым прямым методом измерения свободной энергии и, конечно, наверное... Ну, я вижу, вы сразу нашлись.

Соискатель (Минеев К.С.): Это первый пункт. Прямой метод.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Да. Вот дороговизну – просто дороговизну исключаем. Потому что сейчас если дорого – не работайте. Ну, то есть вы все-таки настаиваете. Да?

Соискатель (Минеев К.С.): Нет, я не говорю, что это единственный возможный метод. Но методом калориметрии, несмотря на то, что вы измеряете напрямую энтальпию процесса или энтропию процесса...

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Ну, энтропия рассчитывается, а энтальпия меряется.

Соискатель (Минеев К.С.): Вы не имеете одновременно представления о структуре состояния, которое меняются. То есть, например, вы наблюдаете...

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Ну, почему? Вы можете раскладывать кривые, так сказать.

Соискатель (Минеев К.С.): Можем.

Габибов Александр Габибович, академик РАН, д.х.н, профессор, член совета: Вы можете симулировать их. То есть я просто считаю, что здесь надо быть более осторожным в интерпретации. Никак не принижая ваши, так сказать... Спасибо большое. Извините.

Соискатель (Минеев К.С.): Хорошо. Приму. Я согласен.

Председательствующий: Получилась целая дискуссия. Есть ли еще вопросы? По-видимому, вопросы иссякли. Я могу не всё видеть. Поэтому активнее, если есть вопросы. По-видимому, нет. Ну, спасибо. Тогда можете пока ненадолго отдохнуть. Дальше по порядку проведения заседания у меня здесь написано: дать слово научному руководителю. Ну, у нас докторская защита, и здесь нет научного руководителя. Поэтому

если Александр Сергеевич хочет все-таки выступить на эту тему, давайте договоримся так, что это будет общая дискуссия, вот тогда будет научному консультанту возможность выступить. Хорошо? Давайте так договоримся. А сейчас нам нужно перейти к заслушиванию отзывов. Значит, сначала у нас организация, где выполнялась диссертация, то есть наш институт. Правильно я понимаю?

Ученый секретарь: *(излагает заключение организации, где выполнена диссертация).* Да. Организация, где выполнялась работа, – это наш институт. У меня в руках заключение, которое утверждено директором нашего института Александром Габировичем Габировым. И в заключении пишется, что в диссертации «Разработка методов ЯМР-спектроскопии и их применение для исследования олигомеризации мембранных белков» выполнена у нас. И далее сведения о Константине Сергеевиче Минееве, который окончил Московский физтех в 2007 году. В 2010-м защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата наук. Тема диссертационной работы утверждена на заседании ученого совета нашего института 6 ноября 2019 года и принята по итогам обсуждения.

Заключение. Ну, в основном тут большая часть, где подробно излагается суть работы, достаточно подробно. И вот такой вот вывод, что «по результатам работы создан набор методов для изучения димеризации или олигомеризации мембранных белков на основе ЯМР (и перечисляются четыре подхода, о которых мы сегодня слышали). Работа выполнена на высоком экспериментальном и методологическом уровне. Выводы конкретные, полностью отражают результаты. Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов сомнений не вызывает. Основные научные результаты опубликованы в 23 работах в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах. Соблюдены в диссертации требования, установленные соответствующими правилами о присуждении ученых степеней. И исходя из вышеизложенного, можно подтверждать, что диссертационная работа удовлетворяет требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям в соответствии с положением. Было голосование. Результаты голосования: «за» – 24, «против» – 0, «воздержались» – 0. То есть присутствовали 24 человека. И подписано зав. лабораторией структурной биологии и ионных каналов нашего института Шенкаревым, доктором физико-математических наук, профессором РАН и зам. директора ИБХ РАН, доктором химических наук Ямпольским Ильей Викторовичем. Вот такое заключение.

Председательствующий: Ну, мы принимаем к сведению и двигаемся дальше. Дальше – отзыв ведущей организации.

Ученый секретарь: *(Оглашает отзыв ведущей организации. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Отзыв ведущей организации. Ведущая организация – это Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова. И в отзыве пишется, что:

«Исследование структур различных биологических макромолекул является важным междисциплинарным направлением современной науки. Важна связь, структура-функция. Указывается на ограничение рентгеновской дифракции монокристаллов, которые не всегда представляют информацию, имеющую непосредственное отношение к их биологической функции. Подчеркивается важность спектроскопии ЯМР. И таким образом подтверждается и утверждается, что диссертационная работа Минеева Константина Сергеевича весьма актуальна. Работа представляет собой логическое продолжение систематических исследований в области применения спектроскопии ЯМР для изучения биологических макромолекул, проводимых в нашем институте, в ИБХ РАН.

Построена работа традиционным образом. Во введении всесторонне обоснована актуальность, научная новизна, практическая значимость выбранной темы. Литературный обзор – это две главы, то есть он большой. Литературный обзор содержит множество ссылок, а именно 338, большая часть из которых относится к высокорейтинговым публикациям последнего 10-летия, что демонстрирует и актуальность, и новизну подходов.

Глава 3. Представлен краткий обзор мембранных белков, изучение которых составляет предмет настоящей диссертации, еще раз сформулирована актуальность и новизна таких исследований.

Глава 4. Автор предлагает новый метод измерения размера бицелл, основанный на модели идеальной мицеллы и экспериментальном измерении коэффициента диффузии с помощью спектроскопии ЯМР.

Ну, тут в отзыве очень интересно. Потому что как бы такие сомнения и недостатки, они рассыпаны по всему отзыву. И поэтому я вынужден, так сказать, читать достаточно подробно. И вот они пишут: «Работоспособность предложенного подхода подтверждается совпадением с результатами, полученными для широкого ряда систем при помощи других ранее разработанных методов». И далее: «Не вполне ясным вопросом здесь остается корректность сравнения данных разных методов при условии сильного различия экспериментальных условий, например, температуры, фазового состояния бицелл, которые могли бы повлиять на итоговый результат. Были ли условия модели описанных экспериментальных данных идентичными во всех обсуждаемых случаях. Другим вопросом относительно корректности применяемой модели идеальной бицеллы является корректировка коэффициента диффузии отдельных компонентов состава детергентов и липидов с учетом различной концентрации частиц в образце. Необходима ли данная корректировка только лишь по причине различной вязкости? Если да, то будет ли эффективнее учитывать вязкость состава напрямую через уравнение Эйнштейна-Стокса для такой корректировки?»

Также не вполне ясно, каким образом был получен коэффициент диффузии липидов при бесконечном разбавлении».

Далее: «Автор тестирует предложенный подход на примере широкого ряда бицелл и заключает, что многие из них подчиняются модели идеальной бицеллы и, соответственно, могут использоваться в качестве мембраноподобных сред. Стоит отметить, что некоторые из них проявляют свойства неожиданного изменения размеров при изменении внешних условий, а также фазовый переход. В этой связи возникает вопрос о том, каким образом проверяется монодисперсность получаемых бицелл. И только при этом условии вычисленные геометрически размеры будут иметь смысл для будущей инкапсуляции молекулы мембранного белка. Стоит отметить, что, несмотря на вышеуказанные замечания, в данной главе автор систематизировал все имеющиеся в литературе данные о строении бицелл и на их основе разработал новый подход, позволяющий измерять и контролировать геометрические размеры получаемых бицелл, что, безусловно, крайне важно для успешного исследования мембранных белков.

Глава 5 посвящена разработке методов определения структуры димеров мембранных белков. И тут тоже говорится, что в данной главе предлагается использовать ЯМР-характеристики метильных групп в качестве сенсоров межмолекулярных взаимодействий по причине того, что на поверхности мембранного белка находится множество таких групп, и они участвуют во взаимодействии в мембране.

Данная гипотеза выдержала проверку на модельных белках с известной структурой, а впоследствии позволила установить пространственную структуру 14 димеров и тримеров мембранных белков. Однако, не вполне очевидно, может ли разработанный метод быть перенесен на другие классы белков, так как выборка модельных соединений была довольно ограниченной. Несмотря на это, предложенный подход не только значительно расширил возможности спектроскопии ЯМР при изучении межмолекулярных взаимодействий между мембранными белками, но и показал несостоятельность некоторых других ЯМР-характеристик как индикаторов таких взаимодействий.

Глава 6 посвящена разработке методов изучения кинетики и взаимодействия различных форм мембранных белков в мембраноподобных средах. Далее пишется, что, к сожалению, автор не оценил точность предлагаемых методов. В частности, следовало бы привести значение критерия рассогласования при аппроксимации зависимости интенсивности сигналов на рисунках 80А и 81Н, чтобы можно было понять, насколько точно могут быть измерены заселенности состояний.

Далее важно. В результате диссертационного исследования автором были разработаны новые подходы к изучению кинетики взаимодействия различных форм мембранных белков на основе спектроскопии ЯМР. Хотя данные подходы имеют определенные

ограничения, они значительно расширяют арсенал имеющихся методов и могут считаться предпочтительными для широкого ряда случаев, в частности, для небольших белков, образующих ограниченное количество олигомерных форм.

И далее. В разделе в этой диссертации автор не только указал на важность исследования структуры мембранных белков целиком, но и впервые осуществил это на примере NRADD, что является значимым научным результатом.

А теперь, собственно недостатки, собственно замечания:

1. Утверждение «чувствительность по фтору в спектрах ЯМР превышает чувствительность по протонам». Это страница 49-я. Это утверждение является спорным, так как величины гиромагнитного отношения и природного содержания соответствующих изотопов говорят об обратном.

2. На странице 136 указано, что сигнал сдвинут в область слабого поля. Хотя, судя по соответствующему рисунку 39, наблюдается сдвиг в сильное поле.

3. Формулировка «угол между связью и тензором» (страница 122) не совсем точна. Вероятно, речь идет об угле между связью и главной осью соответствующего тензора.

4. В диссертации также присутствует небольшое количество опечаток: «селективно» страница 47. Ну, и так далее. Тут целая серия слов, которые приводятся с опечатками.

5. На странице 30 автор отмечает, что каждая вторая публикация структуры МБ, определенная при помощи ЯМР, в частицах МПС наталкивается на критику рецензентов. Любопытно, получена ли данная статистика из личного опыта автора или относится к более широкой выборке.

Указанные неточности и замечания не являются критичными, не влияют на научную ценность. Автор систематизирует огромный объем разрозненных знаний, новые оригинальные подходы, работа представляет несомненную практическую ценность. Перечисляются организации, где это может быть использовано. Подчеркивается, что обоснованность и достоверность сомнений не вызывают. Указывается на личный вклад Минеева Константина Сергеевича, что автореферат диссертации соответствует основным положениям диссертации и ее содержанию, выдержан по форме и по объему. И, соответственно, указывается, что работа по научной новизне, практической значимости и прочее, прочее, прочее соответствует положениям о присуждении степеней.

Отзыв обсужден и утвержден на семинаре в Лаборатории ядерного магнитного резонанса ИНЭОС. Составили отзыв Павлов Александр Александрович, кандидат химических наук по специальности «Элементоорганическая химия», и Новиков Валентин Владимирович, доктор химических наук по специальности «Физическая химия». Ну, и, соответственно, отзыв утвержден этот директором ИНЭОС, член-корреспондентом РАН Трифоновым.

Председательствующий: Ну, отзыв достаточно подробный, необычно подробный. И там были и вопросы, и замечания. На них, я надеюсь, у вас заготовлены ответы. Прошу.

Соискатель (Минеев К.С.): Уважаемые коллеги! Я выписал себе те замечания, которые прозвучали в отзыве ведущей организации. У меня их получилось семь (условно). Я бы хотел сразу принять те замечания, которые касаются оформления работы и неточных формулировок. Я не буду с ними спорить.

Вопрос о корректности сравнения данных разных методов, связанный с, возможно, отличием температуры или концентрации. Я могу ответить следующим образом. Мы проводили исследование наших частиц в широком диапазоне температур и концентраций. Собственно, даже если у нас не было идентичных концентраций с теми, которые представляли другими методами, мы всегда можем экстраполировать или интерполировать. Поэтому для некоторых случаев они были идентичными, для некоторых случаев не были. В силу того, что просто особенность метода такая: где-то нужно 20% липидов добавлять в воду, чтобы получить какой-то результат, а мы не можем сделать больше 5%, иначе у нас спектр портится. Поэтому я считаю, что с учетом проведенного в работе исследования зависимости параметров от концентрации и температуры сравнение вполне корректно.

Второй вопрос касался коррекции коэффициентов диффузии с учетом объемной доли частиц и связана ли она с вязкостью раствора или нет. Тут стоит сказать, что уравнение Стокса-Эйнштейна, которое описывает зависимость коэффициента диффузии от радиуса частиц, оно работает в случае разбавленного раствора сферических частиц. И при повышении концентрации диффузия нарушается. И было несколько теоретических работ, в частности, приведенных здесь на слайде, которые показывают, что можно предложить законы, по которым происходит нарушение диффузии, они не связаны с изменением вязкости. То есть были работы, где пытались просто измерять вязкость и, исходя из этого, получать радиусы, из коэффициента диффузии. Они не сходились с теми результатами, которые получены другими методами, не опирающимися на коэффициент диффузии. Если мы вводим такую коррекцию, то мы получаем совершенно согласованный набор. Наши данные всегда согласуются с данными, например, рентгеновской дифракции... малоуглового рассеяния рентгеновских лучей или малоуглового рассеяния нейтронов, или даже электронной микроскопии где-то, возможно. Здесь я привел пример, как можно определять коэффициент диффузии при бесконечном разбавлении. Это разбавлять раствор и строить кривые такие разбавления и их экстраполировать в «ноль». На самом деле, мы этого не делали. Мы это сделали 2-3 раза, для того чтобы удостовериться, что всё работает. И в дальнейшем мы просто получали одну точку и пересчитывали ее диффузию по этой формуле для этой точки.

Третий вопрос про монодисперсность получаемых бицелл. Мы дополнительно проводили эксперименты между методом динамического светорассеяния для нескольких смесей, анализировали монодисперсность и получали, что среды монодисперсные там, где мы планируем их применять, однако они могут становиться полидисперсными, например, при высоких размерах частиц и повышении температуры раствора. Во время фазовых переходов очевидно, это мы даже нашим методом видим, растворы также полидисперсные. Потому что мы видим две популяции частиц с разными радиусами. Разные были случаи: полидисперсные, монодисперсные. Это проверялось методом динамического светорассеяния, если это возможно.

Не вполне очевидно, может ли разработанный метод для картирования интерфейсов демиризации быть перенесен на других классы белков. На самом деле, мне тоже не вполне очевидно. Просто чтобы это было понятно, надо попробовать. Мы не пробовали. В моем представлении метильные группы – очень удобный объект. Есть методы изотопного мечения, которые позволяют получать сигнал метильных групп даже для белков массой мегадальтон. То есть, есть работы по исследованию протеасомы, где получали спектры метильных групп. Поэтому, в принципе, теоретически это возможно. То есть если у нас есть очень большие объекты и много средств, мы можем сделать такое изотопное мечение и исследовать подвижность метильных групп. Однако, конечно же, это требует изучения, этот вопрос требует изучения.

Вопрос был про оценку точности нашего метода получения заселенности состояния олигомерных форм из интенсивности сигналов в спектрах ЯМР. Предлагалось привести критерий рассогласования. Однако я должен сказать, что мы использовали одновременно аппроксимацию трех зависимостей, и для такого процесса критерий рассогласования, на самом деле, имеет мало смысла. Мы использовали асимптотическую ошибку аппроксимации, и она составляла от 3-х до 5% для используемых параметров. Мы ее приводили в тексте. Но критерий рассогласования, я не уверен, что имеет смысл для такого типа математической задачи.

Ну, и, наконец, замечание про публикации, про то, что каждая вторая публикация, структура, связанная с мембранными белками в частицах мембраноподобных сред, сталкивается с критикой рецензентов. Это мой личный опыт. Просто выборка не очень большая. Там 15-20 этих публикаций было. Но действительно каждый раз возникает вопрос: насколько полученная нами структура соответствует биологической реальности. Я думаю, что я ответил на все вопросы, которые прозвучали.

Председательствующий: Спасибо! Есть ли отзывы на автореферат, на диссертацию?

Ученый секретарь: *(Оглашает отзывы на автореферат. Все отзывы положительные.*

Отзывы прилагаются) В диссертационный совет поступило четыре отзыва на

автореферат. Все отзывы положительные. Поэтому я кратко. Ну, вот здесь в первом отзыве: ставит перед собой и решил четыре важные задачи. В диссертации представлен практически полный набор новых методологических разработок, необходимых для изучения структуры и других свойств олигомеров мембранных белков при помощи ЯМР-спектроскопии в растворе. Это подписано зав лабораторией ядерного магнитного резонанса Научно-исследовательского института физической и органической химии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Южный федеральный университет». Подписал зав. лабораторией ядерного магнитного резонанса Бородин, кандидат химических наук.

Далее. Отзыв. Ну, тут важно, что: «Минеев совершил попытку выйти за общепринятые границы применимости ЯМР-спектроскопии», ну, и так далее. Представленная работа открывает дорогу для изучения структуры, динамики и термодинамических параметров новых классов объектов при помощи ЯМР-спектроскопии. Это подписал Чупин В.В., доктор химических наук, кафедра биофизики, факультет общей и прикладной физики Московского физико-технического института.

Далее отзыв с недостатками. В качестве недостатка отмечу, что некоторые положения, выносимые на защиту, сформулированы неудачно (например, 4 и 6). Они носят характер перечисления результатов, что уместно в выводах, а не в положениях. Автореферат диссертации хорошо оформлен, текст логичен, написан в целом хорошим языком. К недостаткам автореферата можно отнести:

1. Автор использует смесь русскоязычных и англоязычных сокращений, некоторые из которых не расшифрованы в тексте. Список сокращений в конце автореферата обнаруживаешь не сразу.

2. Не отражено содержание восьмой главы, упомянутой в начале автореферата.

3. Имеется некоторое количество стилистических, грамматических погрешностей. Слово «апробация», например.

Подписано: Чижик Владимир Иванович, профессор по кафедре радиофизики. Это Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

То есть все отзывы. А, еще четвертый, да, извините. Ну, тут тоже положительный. Разработанная методология и научные результаты выводят российскую науку на новый уровень. Здесь подписано: Польшаков В.И., ведущий научный сотрудник факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, доктор химических наук. Вот четыре отзыва, один с недостатками.

Председательствующий: Там была пара замечаний. Есть у вас желание реагировать на них? Есть.

Соискатель (Минеев К.С.): Все эти замечания, на самом деле, касались оформления. И я не думаю, что имеет смысл с ними спорить. Тут поспорить можно, но это дело вкуса. Поэтому я просто их приму.

Председательствующий: Принимаем. Хорошо. Мы заслушали все поступившие письменные отзывы. Теперь время заслушать официальных оппонентов. У нас немножко необычная сегодня практика реализуется впервые за всё время. У нас будут два отзыва, зачитанные «на удалении», как сейчас принято выражаться. Начнем мы все-таки с выступления оппонента, который присутствует у нас на заседании. Речь идет о члене-корреспонденте Финкельштейне Алексее Витальевиче. Слушаем вас, Алексей Витальевич.

Финкельштейн Алексей Витальевич, член-корр. РАН, д.ф.-м.н., официальный оппонент: *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Здравствуйте, коллеги, ученый совет, председатель! Диссертация Константина Сергеевича мне очень понравилась. Поэтому я буду мало говорить о ее достоинствах, которые были очень подробно перечислены в предыдущих выступлениях, а сосредоточусь на тех немногих недостатках, которые я обнаружил. Поэтому я постараюсь быть кратким. Потому что недостатков мало. Я прошу меня извинить за то, что я буду подглядывать в шпаргалку. Потому что с тех пор как я написал этот отзыв, прошло много времени, и я многое подзабыл.

Ну, конечно, диссертация эта вносит огромный вклад в разработку новых методов ЯМР-ного исследования мембранных белков. И актуальность этого совершенно очевидна. Потому что, как было сказано, лекарства, а белки исследованы мало.

Я позволю себе пропустить рассказ о первых трех главах, о которых было уже рассказано в отзывах. В основном оппонировавшей организации. Ну, не считая, конечно, того, что сам Константин Сергеевич об этом рассказал. И перейду сразу к четвертой главе – разработке методов анализа свойств мембраноподобных сред. Она произвела на меня очень хорошее впечатление. Рассмотрены в этой главе разнообразные методы приготовления мембраноподобных сред: бицеллы, мицеллы, диски и так далее, и так далее. Всё это потребовало от диссертанта не только теоретической работы, но в основном развития настоящей экспериментальной техники, видимо, очень большой кухни, связанной с изготовлением этих дисков и так далее, бицелл, в которых исследовались мембранные белки.

Здесь я хочу сказать, что, насколько я понимаю, в результате таких разнообразных исследований в разных средах мы получаем не столько, так сказать, ту самую биологическую форму молекулы, которая есть в мембране, а набор возможных, ну иногда это просто одна, но в общем случае – набор возможных форм этой молекулы, которые

могут быть реализованы при тех или иных лигандах или что-нибудь в этом роде. По-моему, это очень интересно – вот такой вот набор, из которого потом молекула может выбирать то, что ей нужно для действия.

Мне очень понравилось диссертантом обнаруженное новое явление, до сих пор не наблюдалось оно. Это фракционный фазовый переход в малых бицеллах, когда оказывается, что эти бицеллы могут состоять в двух состояниях. О больших я сейчас говорить не буду, а вот малые бицеллы в двух состояниях. И это очень похоже на то, что наблюдается в глобулярных белках, когда есть денатурированное состояние. Иногда они разные, но когда у нас есть фазовый переход между двумя состояниями. Здесь тоже: есть мицеллы гелевые, есть мицеллы жидкокристаллические. И они имеют разные размеры, они хорошо разделяются между собой, сосуществуют. Есть кинетика перехода. Всё это очень интересно. К сожалению (вот я сказал, что буду обращать внимание на недостатки), диссертант не рассмотрел, так сказать, эту аналогию между фазовыми переходами в его бицеллах и фазовыми переходами в глобулярных белках. По-моему, из этого можно было извлечь многие интересные вещи. Ну, я думаю, что это дело будущего.

Я позволю себе не касаться тщательно собранных диссертантом характеристик множества изученных им детергентов. Скажу только, что получился такой берштейн, то есть полная сводка (насколько сейчас возможно сделать полную сводку) возможных тисочков в которые зажимаются мембранные белки для их исследования.

Из огрехов я назову только один, но он скажется и потом. Не всегда хорошо отделяются друг от друга термины «энергия» и «свободная энергия». И сначала это не очень мешает, слово «свободная» всегда можно подставить. Но порой это потом приводит к неприятностям. А именно тогда, когда свободная энергия, которая извлекается из концентраций, начинает сравниваться с энергией, которая извлекается из калориметрических данных. И тогда оказывается, что это совсем разные вещи. И вот это здесь мне, пожалуй, не понравилось.

Когда я написал этот отзыв, мне не понравилась также свободная энергия, которую диссертант применял для определения стабильности молекул. Потому что, на самом деле, всё извлекается из концентрации. И, по-моему, этим можно было бы ограничиться. Потом я понял, что свободные энергии, которые диссертант использовал в своей работе, – это уже, вот сейчас, когда я перечитывал отзыв, готовясь к защите, так сказать, что те свободные энергии, которые диссертант использовал, – это, на самом деле, то, что называется стандартной свободной энергией. Они имеют свои недостатки в использовании и так далее. Но если сказано, что это «стандартная свободная энергия», то это понятно, с чем ты имеешь дело. Ее нельзя использовать, для того чтобы сказать, как молекула одна будет переходить в другую в общем случае. Ну, и так далее. Не хочу сюда

углубляться, но просто в значительной степени это смирило меня с использованием этих свободных энергий. Потому что достаточно подставить слово «стандартная» фактически в каждое ваше упоминание этой свободной энергии, и всё будет в порядке.

Я не буду рассказывать о структурах (12-ти, 13-ти или 15-ти структурах), которые получил диссертант. Они красивые, наверное. Почему я говорю «наверное»? Потому что мне очень не хватало стереорисунков этих структур. Если бы они были, это было бы гораздо красивее.

Итак, всё хорошо. И, насколько я понимаю, я должен зачитать последние фразы. Все отмеченные выше недостатки не умаляют качества диссертационной работы Константина Сергеевича. И, учитывая всё сказанное выше, можно заключить, что диссертация Минеева Константина Сергеевича «Разработка методов ЯМР-спектроскопии и их применение для исследования олигомеризации мембранных белков» соответствует всем требованиям Положения «О присуждении ученых степеней», а сам диссертант, несомненно, заслуживает присвоения ему искомой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия. Благодарю за внимание.

Председательствующий: Спасибо за выполненную работу, за ваш отзыв. Константин Сергеевич, вам слово, ваша очередь.

Соискатель (Минеев К.С.): Хотел поблагодарить Алексея Витальевича за такой сложный труд. Непросто прочитать диссертацию. Даже мне свою не всегда. Ну, то есть это было сложно несколько раз ее перечитывать. Я хотел бы ответить на несколько замечаний.

Значит, что касается того, что я упустил возможность рассмотреть аналогию между фазовыми переходами в бицеллах и фазовыми переходами в белках. Да, наверное, это так. Красивая аналогия. Спасибо большое. Я об этом подумаю обязательно. И, может быть, с этого что-то получится.

Потом было замечание про использование стереоизображения, отсутствие стереоизображений. Тут я должен признаться, что я много раз пытался, я так и не научился смотреть на стереоизображения. Поэтому я их стараюсь не использовать. Потому что я понимаю, что есть такие же люди, как я, которые этого не умеют. Ну, может быть, это имело бы смысл. Поэтому, может быть, так было бы красивее. К сожалению, вот я в силу своей ограниченности поступил таким образом.

Алексей Витальевич озвучил замечание и сам же на него ответил. Я вот не очень понимаю, что мне теперь делать. Потому что я готовился. В замечании речь шла, что не очень правильно я использовал, вообще, свободную энергию от димеризации. Потому что это логарифм размерной величины. И, на самом деле, их между собой сравнивать для разного типа процессов тоже невозможно. Я просто хотел ответить, что сами по себе

концентрации не очень информативны. И, понимая, как выглядит константа процессов, мы можем проанализировать, как выглядит сам механизм, сама механика этого процесса. Ну, и плюс, можем делать вот такие вещи, которые я демонстрировал, которые, в принципе, не имея понятия о свободной энергии, сделать невозможно. Действительно, это стандартная свободная энергия. И мое упущение – что я не писал «стандартная» в тексте. Это надо признать. И действительно есть ограничение у подходов, которое заключается в том, что если у нас разная размерность констант, то мы не можем между собой сравнивать две свободных энергии. Это действительно так. Это бессмысленное сравнение. Но определенный выигрыш, который я обозначил, он есть. То есть эффект мутации, анализ эффекта мутации в одном и том же белке, когда один и тот же белок сравнивается, один и тот же тип процессов, и анализ сложных равновесий. Это мой ответ Алексею Витальевичу. Вроде бы все замечания. Спасибо.

Председательствующий: Спасибо. Двигаемся дальше. Теперь давайте послушаем отзыв Альберта Вартановича Аганова, который будет зачитан нам из Казани, Казанского федерального университета, он же «Приволжский». Я надеюсь, система работает.

Аганов Альберт Вартанович, д.х.н., официальный оппонент: Меня слышно, нет? Алло?

Председательствующий: Слышно. Но хотелось бы, на большом экране чтобы это было.

Аганов Альберт Вартанович, д.х.н., официальный оппонент: *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Я здесь присутствую в собственном кабинете. Сейчас попробую. У меня тут вот будущий соискатель докторской слушает. Я говорю: «Слушай, слушай. Скоро тебя так же будут пытаться». Поэтому вот он у нас слушает. Сейчас мы наладим. Уважаемый председатель, у нас приказ в кабинетах тоже ходить в намордниках. Ничего не поделаешь.

Уважаемый председатель! Уважаемое Высокое собрание! Если позволите, я начну с небольшого отступления, или вступления (как угодно). Институт биоорганической химии у меня ассоциируется с именем Владимира Федоровича Быстрова, одного из основоположников и лидеров спектроскопии ЯМР в нашей стране. Я имел счастье быть лично с ним знаком и общаться. Но он был в дружеских отношениях с моим учителем Самитовым. Их связывала одна и та же работа о спектрах структурной корреляции. Только у нас это была фосфорорганическая химия, а у Владимира Федоровича это была биоорганическая химия. И я должен был сейчас показать один слайд, который я позаимствовал у Владимира Ивановича Польшакова. Он мне разрешил его использовать. Вот эта та очень известная статья 1976 года, которая предвосхитила последующую методологию развития ЯМР в биологических системах.

И дальше я хотел бы проиллюстрировать еще одну картинку (если вы мне позволите). Она будет для вас интересна. В силу некоторых обстоятельств я отслеживаю всё, что происходит в мире и у нас в стране в области магнитного резонанса. И, естественно, к сегодняшнему заседанию прямо вот сию секунду я актуализировал одну из своих картинок по состояниям ЯМР в биологии и медицине в России.

И вот с огромным удовольствием хочу поздравить своего коллегу Александра Сергеевича Арсеньева, первого ученика и его последователя, с блестящими результатами его коллектива. Ну, мы Московский университет за скобки сразу убираем, потому что это некий собирательный образ. Ну, а дальше здесь представлена еще целая группа мощных коллективов, которые подключились буквально последние 2-3 года. И вот этот отрыв «Шемякинского» института, он теперь уже стал не очень заметным. Так что, Александр Сергеевич, если вы меня слышите, я вас поздравляю с вашими результатами и вот с этой прекрасной защитой, то есть диссертацией. Она, конечно, у меня вызвала разные эмоции. Но он был у нас в Казани, доложил, и мне всё очень понравилось, особенно как он отвечал на наши вопросы.

И еще я хотел бы Алексея Витальевича поблагодарить за блестящую книжку «Физика белков». Ну, я вот первый раз имею такую возможность. Спасибо вам. Великолепная книжка, много раз издана. Я ее сразу рекомендовал своим студентам. Потому как у нас тоже сейчас биофизическое направление официально развивается.

Ну, а теперь собственно о работе позвольте. Я тоже постараюсь быть кратким. Но некоторые вещи я вынужден зачитать. Я тоже за шесть месяцев уже забыл, о чем эта диссертация, и вот два дня читал снова.

Мембранные белки являются одним из наиболее сложных объектов в структурных исследованиях биофизическими методами. Естественно, «золотой стандарт» – ЯМР, рентгеноструктурный анализ, криомикроскопия. Ну, а исследования в структуре подвижности открывают возможности для анализа на молекулярном уровне их транспортных и сигнальных функций, а также для разработки лекарственных препаратов. Но это уже среды, близкие к нативным, это растворы. И здесь, естественно, главная роль принадлежит спектроскопии ЯМР, но ее применение связано с существенными ограничениями, о которых говорил соискатель. И мы с этим тоже сталкиваемся.

Подбор мембраноподобных сред малого размера, адекватно имитирующих клеточную мембрану, и также разработка новых методов исследования мембранных белков мембраноподобных сред, несомненно, сегодня является очень важной и актуальной работой. Вот этому, собственно, посвящена вся эта работа.

Вот я хотел бы, прежде всего, выделить обзор. Я многих оппонировать берусь только ради того, чтобы получить полное представление об области исследования. Так вот обзор

просто великолепен. И я автору сказал: надо бы что-то опубликовать и в наших журналах, в отечественных, типа «Успехи химии», для того чтобы ознакомить с выбором мембраноподобных сред вот нашу широкую публику. По крайней мере, всем своим аспирантам и соискателям кафедры я ее дал в качестве, так сказать, «книжки для ночного чтения».

В этом обзоре, ну, по моим данным около 400 источников. Всё блестяще аргументировано и проанализировано. И я вот один вывод хотел для себя. Ну, может быть, он для других, так сказать, очевиден, для меня следующий вывод, я его выделил. Кристаллические структуры не могут рассматриваться в качестве идеального эталона. Кристаллизация приводит к возникновению ненативных контактов «белок – белок», которые меняют конформацию в подвижных и неструктурированных регионах белка, делают их жесткими и даже приводят к образованию регулярной вторичной структуры белка. Я это утверждение слышу впервые.

Ясно, что в работе было достаточно много хороших, важных результатов. Они уже прозвучали. Я хотел бы выделить только то, что вот мне лично, как ЯМР-щику, приглянулось. Это материалы пятой главы. На основе наблюдаемых изменений хим.сдвигов протонов углеродов метильных групп автором был предложен подход для наблюдения перехода мономер/димер мембранных белков, и на его основе проведено исследование пространственных структур 12 димеров и два тримера мембранных белков. Была построена первая модель полноразмерного толл-подобного рецептора в димерном состоянии.

Это вообще самостоятельная достаточно большая работа. И в главе 6-й «Разработка методов измерения свободной энергии и кинетики взаимодействия мембранных белков в мембраноподобных средах» на основе измерения заселенности олигомерных форм мембранных белков по двумерным гетероядерным спектрам ЯМР, а также модели равновесия между олигомерными формами, учитывающими мицеллярную среду используемых сред.

Теперь я, естественно, должен сделать замечания, которые мне показались стоящими их озвучить. Я их Константину Сергеевичу в Казани все рассказал. Он, конечно, пожалел, что они проскочили. Но я не могу их не написать и озвучить. Ну, в основном только общего характера.

1. Представляется нецелесообразным выделение отдельной Главы 3 как по объему, так и по форме. Ее вполне можно было включить в главу 8. Это только улучшило бы внешний вид диссертации.

2. Диссертация избыточно перегружена жаргонными выражениями и англицизмами. Но имеют место и терминологические небрежности и неточности. Вот тут, наверное, я все-

таки некоторые зачитаю. «Гиромагнитное отношение не зависит от внешнего магнитного поля, а является внутренней характеристикой магнитных ядер» (стр. 42). Это неточность. По поводу фтор 19 уже комментарий был Алексея Витальевича. Только я добавлю, что фтористые соединения все-таки широко распространены в природе, и токсическое воздействие на окружающую среду их очень хорошо известно. И, более того, всё же фтор 19 относится к методам спектроскопии фтор 19, которые используются в науках о жизни. И далее у меня есть замечание по этой части. Вот я запутался в использовании слова «частицы». В ряде случаев предпочтительнее было бы все-таки использовать либо «агрегаты», либо «комплексы» (например, страница 6). Вот как нужно понимать фразу «обмен веществом между частицами» (страница 21), «когда в растворе начинают образовываться частицы» (страница 25), «ЯМР в частицах мембраноподобных сред» (страница 30), «мембраноподобные среды с частицами малого размера», «обмен материей между частицами». Вот я напрягался, чтобы понять, что же человек хотел сказать.

Дальше. Практически повсеместно употребляется термин «релаксация» без указания, к чему это относится, и нечетко используются его измеряемые параметры: время релаксации и скорость релаксации. При обсуждении влияния движения на времена релаксации следовало оперировать общепринятыми понятиями: времена корреляции молекулярного движения τ_c и ларморова частота прецессии ω_0 , а точнее, их произведением. Это относится, прежде всего, к утверждению (цитирую фразу) «из-за замедленной вращательной диффузии замедляется продольная и ускоряется поперечная релаксация протонов и других ЯМР-активных. Что это такое? Ну, наверное, магнитных ядер?»

Дальше. Как понимать «система релаксирует в N раз (страница 64)? Далее «импульсных последовательностей, осторожно обращающихся с намагниченностью растворителя». Или далее: «Gd влияет на релаксацию растворителя (как это может быть?) и практически не влияет на поперечную релаксацию белка. И так далее.

Было пожелание мое. Вот объекты исследования относятся к наиболее сложным для исследования молекулярным системам из-за наличия мезофазы разной природы. И я так попенял, говорю, ну, надо было бы дать пару картиночек, для того чтобы можно было легче ориентироваться в этом, в общем, довольно сложном материале.

Теперь по содержанию есть небольшие замечания. Я только отмечу вот то, что по делу относится к чтению, пониманию самой диссертации. Диссертация не содержит иллюстрации, которая позволяла бы утверждать, что параметр λ коррелирует с массой молекулы детергента с коэффициентом близким к «1». Это страница 115-116, соответственно.

Страница 121. Непонятно какой вид трансляционной диффузии молекул липидов автор имел в виду. В формуле 31 написано... Ну, скорее всего, это описка. Она написана неправильно. Но не отметить я не мог. Но Константин Сергеевич ее тут же во время замечания поправил, сделал, как она и должна быть.

Вот один достаточно большой фрагмент я должен зачитать. Потому как это мое предположение. И, наверное, у Константина Сергеевича было время сейчас на это ответить. Это комментарий к рисункам 85-а и текст на странице 235. Для энергии активации димеризации получена, как справедливо отмечает автор, «чрезвычайно большая» величина 28 ккал/моль. Здесь и далее там я немножечко поправил у него по тексту. При этом получена она в рамках эмпирического уравнения Аррениуса. Оценка константы скорости обмена при комнатной температуре была произведена по величине обменного вклада в ширину линии, и ей, на мой взгляд, должна соответствовать величина свободной энергии активации порядка 18–20 ккал/моль в рамках теории абсолютных скоростей первого (псевдопервого) порядка. При использовании уравнения Эйринга и Вин – Джонса, вероятнее всего, была бы получена примерно такая же величина (то есть 28 ккал/моль) энтальпии активации, но аномально большая величина энтропии активации, порядка 120 э.е. что, в свою очередь, указывало бы как на более вероятную энтропийную природу перехода через барьер.

Далее смутила немножко фраза «Был проведен анализ формы линий... (и далее по тексту) ниже 15°C медленная вращательная диффузия препятствует анализу спектров ЯМР, а выше 40°C переходит из медленного в промежуточный, что проявляется...» и так далее. Ну, фраза непонятная. Поскольку здесь смешиваются процессы разной природы и в разных временных шкалах. Ну, и для времени корреляции вращательной диффузии следовало все-таки пользоваться общепринятым выражением τ_c .

А теперь заключение. Отмечу, что большая часть отмеченных замечаний типична для соискателей квалификационных работ, публикующих свои результаты в силу необходимости в зарубежных журналах. Это следствие отсутствия опыта изложения материала на русском языке и общения с русскоязычной редакцией. Но в заслугу диссертанта следует отнести четкое разделение результатов с основными соавторами публикаций, оценку стоимости экспериментов. Применительно к данной области исследования представленные диссертантом акценты на методический и методологический аспекты представленной работы считаю абсолютно оправданными.

В то же время следует отметить, что полученные результаты сами по себе самоценны. Высказанные замечания не затрагивают основных положений, защищаемых автором выводов диссертации, и не снижают ценности проведенного исследования и высокого качества представленной диссертационной работы.

Диссертация производит впечатление законченного исследования, основанного на объемной и тщательно выполненной экспериментальной работе. Ее результаты могут быть использованы в организациях, занимающихся структурными исследованиями. Например, в Институте белка РАН и так далее (в отзыве они перечислены). И на моем представленном слайде было видно первые 10 организаций страны, которые этими проблемами занимаются. Всем им это будет очень интересно.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Минеева Константина Сергеевича «Разработка методов ЯМР-спектроскопии и их применение для исследования олигомеризации мембранных белков» соответствует критериям, установленным Положением «О присуждении ученых степеней» (далее написаны даты этих документов), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия. Я закончил свое выступление. Спасибо за внимание.

Председательствующий: Спасибо, Альберт Вартанович. Константин Сергеевич, вам решать, соглашаться либо спорить с тем, что тут высказано по поводу вашей работы.

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо. Можно я включу презентацию? Спасибо большое, Альберт Вартанович, за титанический труд. Значит, по конкретным замечаниям. Я бы хотел согласиться со всеми замечаниями Альберта Вартановича, которые касались небрежности формулировок. Я думаю, что он прав. И прав в том, как он объяснил причину таких формулировок. Действительно это так. Я очень мало пишу на русском языке, и это сказывается.

По другим конкретным замечаниям по главе 3. Глава 3 – это небольшая глава в моей диссертации, которая посвящена краткой характеристике объектов исследований. Я ее ввел, для того чтобы человек, который читает текст от начала и до конца, чтобы у него не возникало логических разрывов. Если бы она была в конце, то человек, который читает текст, мог бы не понять, что это за белки, которые мы изучаем, и откуда они, вообще, берутся. Теперь следующее. Я не знаю, а вот если замечание есть в письменном отзыве, но оно не прозвучало в выступлении Альберта Вартановича.

Председательствующий: Отвечать.

Соискатель (Минеев К.С.): Отвечать. Хорошо.

Аганов Альберт Вартанович, д.х.н., официальный оппонент: А я настаивать не буду.

Соискатель (Минеев К.С.): В отзыве прозвучало замечание о том, что целесообразно было бы использовать фазовые диаграммы для описания фазовых переходов липидного бислоя. Я попробовал построить такую фазовую диаграмму. Приблизительно она выглядит таким образом, как показано на этом слайде. И мы видим, что есть, грубо говоря, две фазы липидного бислоя, и есть область существования фаз. И, мне кажется,

это разумное предложение, я с ним согласен. Однако подход, когда мы измеряем соотношение липидов в различном фазовом состоянии в зависимости от температуры и соотношения компонентов смеси, он является более наглядным, то есть можно получить больше информации. Это мой ответ на это замечание.

Что касается иллюстрации. Диссертация не содержит иллюстраций, которые позволяют утверждать, что параметр λ коррелирует с массой молекул детергента с коэффициентом близким к «1». Действительно такой иллюстрации нет. Я ее сделал. И, на самом деле, фраза немножко неправильно построена. То есть относительное изменение параметра λ коррелирует с изменением молекулярной массы детергента, грубо говоря, с коэффициентом близким к «1». Это действительно так.

Не понятно, какой вид трансляционной диффузии молекул и липидов имеет в виду автор. Да, я имею в виду диффузию, которая измеряется при помощи ЯМР. То есть это пик в спектре ЯМР. Он характеризует среднюю диффузию молекулы, ядра которой приводят к появлению сигнала спектра ЯМР. То есть в данном случае это некий усредненный коэффициент трансляционной диффузии, например, молекул липида или молекул детергента.

И последнее большое замечание касалось моего анализа свободной энергии активации и димеризации, которая была получена из анализа кинетики. В зависимости от кинетики этот процесс димеризации температуры. Действительно была получена большая величина – 28 ккал/моль. И Альберт Варганович предложил использовать уравнение Эйринга для анализа. Проблема уравнения Эйринга в том, что оно содержит коэффициент, который называется «переходный коэффициент» или «коэффициент каппа», который описывает вероятность достижения конечного состояния, после того как пройдено переходное состояние. Вот она, на самом деле, не равна «1». Если белок попадает в переходную форму, он может вернуться обратно в начальное состояние или попасть в конечное.

К сожалению, оценить этот коэффициент для мембранных белков – в литературе оценок нет. И как его оценивать – мне было тоже не очень понятно. Поэтому я решил отказаться от использования уравнения Эйринга в своей диссертационной работе. Однако если взять некую достаточно случайную оценку (это параметр каппа), ту же, которую используют для фолдинга водорастворимых белков, то действительно мы получим значение энтальпии димеризации 16 ккал/моль и аномально высокое значение энтропии переходного состояния, изменение энтропии переходного состояния. И действительно природа перехода через барьер, она энтропийная, как предположил Альберт Варганович. То есть он совершенно прав. Я постарался ответить на все замечания. Альберт Варганович, я на всё ответил?

Аганов Альберт Вартанович, д.х.н., официальный оппонент: Да-да. Мне было очень важно, чтобы вы это сделали. Потому что, понимаете, механизм очень важен. Не всегда же энтропический переход. Иногда принципы симметрии и прочие энтропийные факторы работают очень сильно. И таких аномалий достаточно много.

Соискатель (Минеев К.С.): Альберт Вартанович, я прослушал. Половина вопроса не прозвучала, половина вашей фразы. Почему-то звука не было.

Аганов Альберт Вартанович, д.х.н., официальный оппонент: Я сам часто встречался с подобными вещами и никак не мог понять, в чем дело. Когда энтропийный фактор таким большим является, тогда получается, что переходные состояния множественные. А оно как раз соответствует тому же, о чем вы говорили, что переходное состояние – много структур. И тогда вот эта картинка будет являться. Поэтому я обратил ваше внимание на то, чтобы вы это посмотрели. И вы это сделали. Конечно, понятно, мы трансмиссионный коэффициент условно можем определить, но всё же схема у вас получилась. И я, вот честно говоря, удовлетворен. У меня у самого не было времени проделать эту работу, а вы ее проделали. И вот очень хорошо, что есть некие соображения на будущее учитывать такую вероятность процессов. Спасибо вам.

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо.

Председательствующий: Всё у вас. Да?

Аганов Альберт Вартанович, д.х.н., официальный оппонент: Да-да, всё. Мы обсудили многие ответы еще в Казани. Но я не могу не писать в официальном заключении. Всё это обсуждалось на семинаре в Казани в нашей лаборатории ЯМР.

Председательствующий: Всё понятно. Нам осталось заслушать еще одного официального оппонента – Елена Григорьевна Багрянская. Это у нас Новосибирский институт органической химии имени Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения. Доктор физико-математических наук, профессор, директор института.

Багрянская Елена Григорьевна, д.ф.-м.н., официальный оппонент: *(Излагает отзыв. Отзыв положительный. Отзыв прилагается)* Добрый день, дорогие коллеги! Ну, мне достаточно сложно сейчас выступать, после того как выступили все оппоненты и ведущая организация. Ну, прежде всего, я хотела бы присоединиться к мнению Алексея Витальевича и Альберта Вартановича о том, что это великолепная диссертация, целостная, большая, добротная работа. Прделана огромная работа. Она логически связана. Это и разработка методов, и потом применение их для исследований различных объектов. И в моем отзыве (он достаточно пространный) отмечены все достоинства, собственно, описаны все основополагающие результаты. Понятно, и актуальность, связанная с тем, что мембраны у нас играют огромную роль и в воздействии являются мишенями для лекарственных средств и важная роль в регуляции различных изменений

мембранного потенциала, и так далее. То есть я не буду тут повторяться, чтобы не затягивать защиту диссертации.

Кроме того, отмечена новизна, которая заключается... То есть то, что мне нравится – это разработка методов. Потому что при разработке методов этим могут пользоваться большое количество в дальнейшем других ученых. Это не просто исследование каких-то определенных объектов, но разработка новых подходов. И это, на самом деле, восхищает, конечно, эта работа. Отмечается практическая важность работы, которая, несомненно, как я уже говорила, что это можно будет использовать многими другими для исследования других объектов. Достоверность и новизна не вызывает сомнений. Отмечается о том, какие методы были разработаны. Я не буду повторять, потому что был совершенно блестящий доклад самого диссертанта, и так же всё это было отмечено ведущей организацией. Поэтому я и не хочу всё это дело повторять.

Ну, по структуре также скажу, что это восемь глав. И первые две главы – это литературный обзор. Но, насколько я понимаю из обсуждения с Константином Сергеевичем, первая глава, она опубликована уже в виде обзора, насколько я понимаю, и она, в общем, очень хорошо выдержана, там очень большое количество ссылок. И так же, как вот Альберт Вартанович сказал, так и у себя в лаборатории я, собственно, дала это нашим ЯМР-щикам как, так сказать, «руководство к действию» в дальнейшем и для того чтобы можно было это использовать.

Далее излагается четвертая глава, действительно самая большая. И она состоит из 15 разделов. Здесь просто излагаются все основополагающие разработанные подходы и методы. И я, наверное, перейду к вопросам и замечаниям. Как я уже сказала, меня, в принципе, эта диссертация восхитила и своим объемом, и содержанием, и качеством работы. Вот среди вопросов и замечаний по диссертации.

В пятой главе, касающейся определения структуры димеров мембранных белков, было обнаружено отсутствие необходимой предсказательной силы у изменений химических сдвигов амидных NH-групп и метильных групп, а также констант взаимодействия C-C/N. Автором было предложено использовать параметры изменения подвижности метильных групп для предсказания интерфейсов димеризации, в частности, изменения времени корреляции метильных групп, характеризующих их быстрое вращение порядка пикосекунд. Однако, остается непонятным, можно ли с этой целью использовать аналогичный подход для анализа изменений подвижности непосредственно амидных групп. Мне кажется, там была картинка, поэтому я думаю, что будет легко показать это и объяснить, ответить нам на этот вопрос.

И второе замечание. При исследовании рецептора нейротрофина p75NTR (это параграф в главе 7-й 2.2) приводится сравнение индексов вторичного химического сдвига ядер C-

альфа и карбоксильного углерода белка р75-ТМ-чоппер. Трансмембранного чоппера в бицеллах DPC. При этом в неупорядоченном домене чоппера отчетливо наблюдается аномалия для сдвига карбонильного углерода для одного из центральных аминокислотных остатков. Есть ли этому объяснение? Ну, это, по-моему, слайд (я записала) 52... 41-й слайд в этой презентации.

Кроме того, я так же могу сказать, что имеются мелкие замечания по оформлению. Тут у меня перечислены все опечатки. Ну, не все, а часть из этих опечаток я перечислила в своем (дефект звука: 02:06:54 – 02:07:12) ни в коей мере не умаляет достоинств этой замечательной диссертации высокого научного уровня. В целом диссертация хорошо оформлена. Картинки очень красивые там сделаны. Написана хорошим языком, ясным языком. Не содержит слишком много грамматических ошибок и опечаток (бывает больше в моей практике оппонирования). Автором диссертации проведен очень большой объем экспериментальной работы, разработан целый ряд новых методов и подходов для исследования структуры мембранных белков и измерения свободной энергии и кинетики взаимодействия мембранных белков в мембраноподобных средах. Разработанные методы применены для практического изучения целого ряда мембранных белков. Полученные результаты и проведенные эксперименты свидетельствуют о высокой научной квалификации автора в области применения метода ЯМР к задачам исследования структуры и динамики биомолекул.

Диссертация является законченной научно-исследовательской работой, основные результаты которой опубликованы в 23 статьях в ведущих высокорейтинговых зарубежных и российских научных журналах, входящих в перечень ВАК Российской Федерации для публикации материалов диссертаций и в 17 тезисах докладов российских и международных конференций. Автореферат и опубликованные работы правильно и полно отражают содержание диссертационной работы.

Диссертационная работа Минеева Константина Сергеевича, безусловно, соответствует критериям, установленным Положением «О присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24 октября 2013 года № 842), в которой решена задача создания методов, основанных на ЯМР-спектроскопии для определения структуры мембранных белков, а также методов измерения свободной энергии и кинетики взаимодействия мембранных белков в мембраноподобных средах. Минеев Константин Сергеевич, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия.

А вообще, я хотела бы добавить вот такую вещь от себя. Вы знаете, на международных конференциях обычно очень много выступает представителей, которые учились в России. И вот, встречаясь с ними, очень часто я спрашивала: «А откуда вы?» И, как правило, они

говорят: «Из лаборатории Арсеньева Александра Сергеевича». Это и Орехов, и другие люди, и с Константином Сергеевичем мы также там встречались. Просто я хотела бы сказать, как правильно они выступают в других странах. Что мне совершенно приятно – это то, что вот только в последнее время было защищено две докторских: это Захар Шенкарев и вот Константин Сергеевич Минеев защитили докторские диссертации. Я очень надеюсь, что они будут работать в России. Что вот эта школа, блестящая школа Александра Сергеевича Арсеньева, которая вот за последние годы, в общем-то, это просто прекрасная лаборатория, один из студентов у нас там был и приехал совершенно в восхищении, что она будет сеять разумное, доброе, вечное в области магнитного резонанса биологических систем, и вся эта школа, она будет продолжаться. Потому что без наличия вот таких ученых высокого уровня, и вот мы сегодня такого ученого слушали на этом совете, я думаю, что школу легко прекратить. И мы знаем, что в России какие-то школы, они действительно прекратились. И то, что вот это есть, я предлагаю дальше развивать. Это будет очень здорово. А Александру Сергеевичу пожелать дальнейших учеников, таких же блистательных. Ну, и так же Константину Сергеевичу – продолжать это дело, чтобы это множилось молодым ученым. Всё.

Председательствующий: Спасибо, Елена Григорьевна. Но, тем не менее, там были замечания, на которые хотелось бы услышать ответы.

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо большое, Елена Григорьевна, за лестный отзыв, за то, что ознакомились, прочитали и рекомендуете мою работу. Очень приятно, что она оказалась полезной. В отзыве прозвучало два основных замечания. Я, опять же, приму всё, что касается оформления, опечаток, погрешностей. Первое замечание было связано с возможностью использовать параметры подвижности амидных групп белка, для того чтобы картировать интерфейсы взаимодействия между мембранными белками. Тут я должен сказать, что, к сожалению, амидные группы в мембранном белке обычно участвуют в образовании водородных связей. Поэтому они достаточно жестко зафиксированы, и при димеризации их подвижность меняется так же, как подвижность белка как целого. То есть там нет никаких специфических эффектов, связанных с взаимодействием. Они меняются равномерно по всей структуре белка и достаточно одинаково. Это что касается амидных групп.

По поводу аномальных значений вторичного химического сдвига вот для этого остатка, я так понимаю, который мы видим. Тут, к сожалению, индекс вторичного сдвига не учитывает никак контекст аминокислотной последовательности. И остатки, которые расположены перед остатками пролина, у них часто наблюдаются такие вот аномальные вторичные химические сдвиги. То есть здесь фрагмент из трех пролинов подряд, насколько я помню, и из-за этого такой аномальный химический сдвиг мы видим.

Багрянская Елена Григорьевна, д.ф.-м.н., официальный оппонент: Хорошо. Спасибо.

Соискатель (Минеев К.С.): Вас не слышно, Елена Григорьевна, почему-то.

Багрянская Елена Григорьевна, д.ф.-м.н., официальный оппонент: Спасибо большое за ответы. Я удовлетворена.

Соискатель (Минеев К.С.): Спасибо большое.

Председательствующий: Ну, что ж, мы завершили заготовленную часть нашей процедуры. Переходим к открытой дискуссии, к общей дискуссии. Кто хотел бы поделиться впечатлениями по поводу работы, голосования? Свободная дискуссия. Прошу. Профессор Ефремов.

Ефремов Роман Гербертович, д.ф.-м.н., член совета: Уважаемый Вадим Тихонович! Уважаемые коллеги! Ну, я сразу скажу, что я не могу рассматриваться как сторонний наблюдатель, эксперт, поскольку у нас с Константином Сергеевичем есть совместные работы, и я также эту тему достаточно хорошо знаю. Но смотрим мы несколько с другой колокольни – с точки зрения вычислительной биофизики. Знаю, конечно, глубоко не все аспекты работы, потому что работа очень многогранная. Но сразу хочу сказать, что сегодня очень важный, я считаю, день для нашего диссертационного совета. Потому что мы увидели очень сильную, созревшую такую, выдержанную в традиционном стиле (в хорошем понимании этого слова) научную работу, которая, ну, вот переходя на терминологию, которую Константин Сергеевич тут предложил, и работа, и сам соискатель очень богаты запасом свободной энергии. То есть можно было на основании тех результатов, которые есть (я просто знаю те, которые еще не представлены были сегодня), можно было построить доклад совершенно по разным направлениям. То есть выбрать объектную сторону, говорить в основном об объектах, об очень интересных объектах. Но Константин Сергеевич выбрал такой методологический подход. И, честно говоря, мне это очень нравится. Это уже, кстати, оппоненты отмечали, что вот именно разработка, методическая новизна – это тот потенциал научный и технологический, который эта работа несет. Это очень, действительно интересные перспективы открывает по использованию ЯМР-спектроскопии.

Но Константин Сергеевич не сказал о тех удивительных и очень важных рецепторах, для которых в его работе была получена уникальная информация. Ну, это как бы богатый человек может себе позволить только часть своего богатства показать. Я имею в виду научных идей, методов созданных, подходов.

И еще я хотел бы отметить, что очень честная работа. То есть Константин всё делал сам со своими младшими коллегами. Это действительно тоже для молодого доктора наук сделать такую работу – я считаю, это событие. И Елена Григорьевна тут опередила меня немножко, но я абсолютно согласен, что защита, на которой мы сегодня имеем честь

присутствовать, она задает планку. Вот она подтверждает тот высокий статус, уровень образования, образовательной работы, которая проводится как в лаборатории. Ну, конечно физтех – это марка, понятно. Но Константин Сергеевич выпускник кафедры, которую возглавляет Александр Сергеевич. Он в составе лаборатории, которую возглавляет Александр Сергеевич. Ну, поздравлять заранее не принято, не буду поздравлять. Но, Александр Сергеевич, огромное спасибо за подготовку таких кадров. Огромное спасибо, конечно, нашему учебно-научному центру, который тоже приложил много усилий для того, чтобы из стен нашего института выходили такие выдающиеся (не побоюсь этого слова) специалисты.

С Константином Сергеевичем очень приятно работать. Он полон идей. Он не чурается такой «мокрой» экспериментальной работы. Сильная теоретическая подготовка. Мы это всё сегодня прекрасно видели. Поэтому я буду голосовать, конечно, «за». И если я могу, я призываю всех сделать то же самое. Еще раз спасибо.

Председательствующий: Полное право. Спасибо. Кто еще хотел бы высказаться? Александр Сергеевич, прошу.

Арсеньев Александр Сергеевич, д.х.н., научный консультант, член совета: Мне приятно было слышать этот доклад, вопросы и ответы, замечания рецензентов, в большинстве своем весьма благожелательные. Но я хочу, прежде всего, поблагодарить Вадима Тихоновича Иванова за то, что когда-то он меня сделал, ну, с его подачи я стал зав. кафедрой на Физтехе, и там выросли вот такие молодые, красивые, стройные. И Татьяну Владимировну, которая приложила много сил для подготовки таких специалистов в учебном центре. И сейчас если я так назад считаю и смотрю, то выпускники этой кафедры и выпускники, так скажем, моей лаборатории, которые проходили практику, являются профессорами во многих университетах, лабораториях по всему миру от Сингапура до Сингапура (если вокруг глобуса крутиться).

Не могу сказать, что Константин Сергеевич наиболее выдающийся из них, некоторые более именитые. Но он еще молодой. То есть есть надежда, что он исправится и выше подымет знамя российской науки, в том числе, в Институте биоорганической химии. Ну, я не знаю, могу ли я призывать голосовать за него, но мне кажется, что надо голосовать «за», и у него есть большие перспективы. Вот посмотрите, он молодой, стройный, высокий, без большого живота, отец двоих детей и красавицы жены, которую я никогда не видел. Я думаю, она где-то здесь сидит. Всего этого он достиг своим умом, трудолюбием, усердием. Голосуйте за него, вы не прогадаете. Спасибо.

Председательствующий: Мы учтем. Мы вас поняли. Мы вас услышали. Александр Александрович, прошу. Еще одно выступление.

Василевский Александр Александрович, к.х.н.: Уважаемые коллеги! Мы с Константином Сергеевичем дружны, поэтому мое мнение несколько предвзято. Но все-таки я хотел бы с вами поделиться двумя соображениями или, скорее, наблюдениями. Первое такое. Вот 23 статьи, но это далеко не все. У Константина Сергеевича разветвленная сеть научных взаимодействий и с зарубежными коллегами, и с российскими, и, конечно, с рядом лабораторий нашего института, и со школой Евгения Васильевича Гришина, что вашему покорному слуге особенно приятно. Это первое наблюдение.

А второе, оно, скорее, объясняет первое – почему так. Это не случайно. С Константином Сергеевичем сотрудничают и хотят сотрудничать. И мне кажется, что он снискал уважение коллег, ровесников. А в нашем институте, вы знаете, несмотря на повальную «утечку мозгов» в России, продолжающуюся, из России, в нашем институте это поколение достаточно сильное. Поэтому это дорогого стоит. И вот такое своеобразное peer review Константин Сергеевич с блеском прошел. Я хотел бы, пользуясь случаем, пожелать ему дальнейших успехов и призвать уважаемый совет, конечно, голосовать «за». Спасибо.

Председательствующий: Спасибо. Есть еще, что можно добавить к тому, что мы слышали? Мне кажется, ситуация достаточно ясная. Если так, если нет больше желающих, то я даю слово, Константин Сергеевич, вам для завершения этой процедуры защиты.

Соискатель (Минеев К.С.): Прошу прощения. Мне нужно будет пролистнуть несколько слайдов, чтобы никого не забыть. Я хотел бы начать с того, что поблагодарить всех людей, которые, как я считаю, приняли участие в данной работе. В первую очередь, я хотел бы поблагодарить, конечно же, Институт биорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова. Это великолепное учреждение, где есть отличная инфраструктура, условия для работы. Я надеюсь, что так это и останется в будущем, и мы будем только развиваться и улучшаться. Поэтому огромное спасибо институту и дирекции института в лице и Вадима Тихоновича, и Александра Габировича, и всех, кто принимает участие в том, что наше учреждение работает, и работает успешно.

Во-вторых, я, конечно же, хотел поблагодарить и диссертационный совет, и оппонентов, и ведущую организацию, которые изучили мою работу. Я понимаю, что это сложный труд в настоящее время заниматься рецензией научных работ. Потому что это никак не премируется, не вознаграждается, это просто социальная ответственность. И очень здорово, что вы это бремя несете.

Конечно же, свою работу я делал не один. Все статьи, которые опубликованы, в них множество соавторов. Поэтому я хочу поблагодарить тех людей, которые принимали непосредственное участие в моей работе. В первую очередь, конечно же, Александра

Сергеевича Арсеньева, которого я могу с гордостью назвать «своим учителем», который меня всё время подталкивал и заставлял развиваться, когда я еще не понимал, зачем это нужно: писать статьи, подавать заявки на гранты, руководить проектами. Я вижу, Александр Сергеевич всё время старается меня подтолкнуть и мое развитие. И это здорово. Спасибо большое, Александр Сергеевич.

Мои соавторы. В первую очередь, у меня есть два основных соавтора: это Эдуард Бочаров, с которым мы сделали огромное количество вместе работ и который был моим руководителем, когда я пришел сюда студентом, который фактически научил меня в большей части того, что я умею. Эдик, спасибо тебе большое. Сергей Александрович Гончарук. Это тот человек, с которым мы в последнее время выполнили огромное количество работ. И я не знаю, что бы я без него делал. Сережа, спасибо. Масленников Иннокентий. Это мой первый руководитель. И я тоже ему благодарен, это его большая наука. Ну, и, наконец, практически полный состав нашей лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии принимал участие, так или иначе, в моих работах. И мои студенты-аспиранты, которые сделали многое. В этой работе я не включил тех студентов, которые у меня сейчас есть, они ничего не делали, но я им тоже благодарен, потому что они мне очень помогают сейчас. В частности, это Динара Усманова, Екатерина Новикова, Паша Брагин, Эрик Кот. Это те люди, чьи результаты попали в эту диссертацию.

Очень много мы сотрудничаем с отделом инженерии белка под руководством Михаила Петровича Кирпичникова, в частности, одно время это были Лена Ткач, Ярослав Ярмолук, Александр Шульга, а также команда Дмитрия Александровича Долгих и Люкмановой Екатерины Назымовны: это Михаил Шулепко, Неля Хабибулина. И Ольга Бочарова и, опять же, Сергей Гончарук – это те люди, благодаря которым я имею свои образцы и у меня есть с чем работать.

Наконец, очень плодотворное сотрудничество есть между лабораторией ЯМР-спектроскопии и отделениями нашего института, которые занимаются компьютерным моделированием. В первую очередь, это, конечно же, лаборатория Романа Гербертовича Ефремова. Паша Волынский и Андрей Кузнецов – это те люди, с которыми мы много и плодотворно сотрудничали, и их результаты также попали или частично попали в эту диссертацию. Также я благодарен своим друзьям, с которыми у нас было плодотворное обсуждение. Это Иван Болдырев, Александр Василевский, Антон Чугунов, Антон Полянский. Иностранным коллегам, с которыми мы вместе работаем: это Марсал Вилар, Курт Балмер, Михаил Вайс.

Также, конечно же, я благодарен Российскому научному фонду и Российскому фонду фундаментальных исследований за то, что они нам дают деньги на нашу работу. Ну, и, переходя от тех, кто участвовал в моей работе, я хотел бы поблагодарить тех, кто

участвовал во мне. Я хочу поблагодарить тех, кто дал мне образование. Татьяна Владимировна Овчинникова, это последний этап моего образования, это научный учебный центр, это физтех, это моя школа. И, конечно же, моя семья, спасибо вам большое. Спасибо. *(Аплодисменты)*

Председательствующий: Спасибо. Ну что ж, остается только счетной комиссии проголосовать, я так понимаю. У меня уже заготовлен, так сказать, согласованный состав счетной комиссии и по размерам, и по персонам, без регалий, имен и отчеств: Уткин, Липкин и Олейников. Обычно у нас не бывает отводов, самоотводов. Я надеюсь, сегодня мы имеем такой же случай. Проверяю. Да, так оно и есть. И еще после того как мы проголосуем и объявим итоги голосования, нам предстоит голосовать за проект заключения нашего совета диссертационного. Обычно мы перед тем как завершать свою работу, перед голосованием согласовываем текст этого заключения. Если у кого-то есть предложения по поводу исправления текста, чтобы голосование прошло более гладко, я прошу дать такие предложения. Николай Владимирович традиционно это делает, и он, по моему, это хочет сделать и сейчас тоже.

Бовин Николай Владимирович, д.х.н., член совета: У меня даже складывается впечатление, что диссертанты специально оставляют вот такие «заманки» в своих документах и потом заключают пари: найдет/не найдет, найдет/не найдет. Нашел. Страница 5, примерно середина, чуть ниже: «диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных...» и так далее и последнее слово абзаца «открытий». Вот здесь такой мощный стилистический диссонанс наблюдается. Слово «открытий» Константин использует в таком, скорее, бытовом смысле. А в документе, который мы сейчас рассматриваем, открытие однозначно трактуется как что-то типа «открытие ДНК» или расщепление ядер урана.

Председательствующий: Предлагаете заменить на «результатов», я так понимаю.

Бовин Николай Владимирович, д.х.н., член совета: Что-то такое очень значительное, от чего содрогается весь мир. Здесь после слова «открытий» ставится двоеточие. И то, что мы читаем дальше, входит в тот самый диссонанс, а именно пять или шесть раз используется слово «методика». То есть, с одной стороны, «открытие», а потом оно раскрывается в виде того, что обозначается словом «методика». Явно не соответствует одно другому. Поэтому я предлагаю в слове «открытие» градус понизить, а в слове «методика» градус повысить.

Председательствующий: Заменить на «результатов».

Бовин Николай Владимирович, д.х.н., член совета: Да. Здесь однозначно, это легко меняется «получен ряд важных результатов». А слово «методика», которое явно здесь уничижительно смотрится по отношению к тем результатам, которые на самом деле

достигнуты, заменить на слово «методология». И всё. И всё будет гармонично и прекрасно.

Председательствующий: Это ваше предложение.

Бовин Николай Владимирович, д.х.н., член совета: Да.

Председательствующий: Ну, сейчас оно очень легко решается. У автора нет возражения против такой коррекции? Если его нет, то мы будем голосовать за такой подправленный текст заключения. Нет возражений против названного состава счетной комиссии? Комиссия избрана. Объявляю перерыв на голосование. Прошу не расходиться. Я надеюсь, подсчет будет быстрым.

(Проводится тайное голосование)

Председательствующий: У меня ощущение, что подсчет закончен нехитрый. И мы с нетерпением ждем объявления.


Председатель счетной комиссии: Коллеги! Счетная комиссия завершила свою работу. Присутствовало на заседании: 21 член диссертационного совета. Оказалось розданных бюллетеней – 21. Оказалось в урне – 21. Результаты по Минееву Константину Сергеевичу: «за» проголосовало 20, «против» – нет, недействительных – 1.

Председательствующий: Прошу утвердить итоги данного голосования. Кто за? Кто против? *(итоги тайного голосования утверждены единогласно)*

(Дальше проводится голосование по проекту заключения. Принято единогласно).

Поздравляем с успешной защитой. *(Аплодисменты)* Мы не зря поработали. До следующей встречи! Спасибо!

Председатель диссертационного совета
академик РАН



Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор физ.-мат.наук



Олейников В.А.