

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,
созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
по диссертации на соискание ученой степени доктора наук

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 16 сентября 2020 года № 25

О присуждении **Минееву Константину Сергеевичу**, гражданину Российской Федерации,
ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «**Разработка методов ЯМР-спектроскопии и их применение для исследования олигомеризации мембранных белков**» по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия принята к защите 4 декабря 2019 г., протокол №23 диссертационным советом 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 (117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель **Минеев Константин Сергеевич**, 1984 г. рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук «Гомо- и гетеродимеризация трансмембранных сегментов рецепторов семейства ErbB» защитил в 2010 году в диссертационном совете Д 501.001.96 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (диплом кандидата наук: серия ДКН № 119228). Работает старшим научным сотрудником лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Диссертация выполнена в лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии отдела структурной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Финкельштейн Алексей Витальевич, чл.-корр. РАН, проф., д.ф.-м.н., заведующий лабораторией физики белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Институт белка Российской академии наук";

Багрянская Елена Григорьевна, проф., д.ф.-м.н., директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки "Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук";

Аганов Альберт Вартанович, проф., д.х.н., заведующий кафедрой медицинской

физики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук, г. Москва, в своем *положительном* заключении, составленном Новиковым Валентином Владимировичем, д.х.н., руководителем отдела физических и физико-химических методов изучения строения веществ, и утвержденном директором, д.х.н., проф., чл.-корр. РАН Трифоновым Александром Анатольевичем, указала, что диссертационная работа Минеева Константина Сергеевича «Разработка методов ЯМР-спектроскопии и их применение для исследования олигомеризации мембранных белков» по актуальности темы, научной новизне, практической значимости полученных результатов, обоснованности сделанных выводов и уровню исполнения является логически законченной научно-квалификационной работой, содержащей решение важной научной проблемы определения структуры мембранных белков в мембраноподобных средах при помощи спектроскопии ЯМР. Диссертационная работа полностью **соответствует** всем критериям (в том числе, п.9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант, несомненно, заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – «биоорганическая химия».

Соискатель имеет 64 опубликованные работы, из них по теме диссертации опубликовано 23 научных работы (общим объемом 37.3 печ.л.) в рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций, из них – 2 обзора. В 11 работах соискатель выступает в качестве первого соавтора, в 4 - вторым соавтором с указанием равного вклада в работу, в 4 - последнего соавтора, как руководитель работы. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной либо существенный вклад:

1. **Mineev K.S.**, Bocharov E.V., Volynsky P.E., Goncharuk M.V., Tkach E.N., Ermolyuk Y.S., Schulga A.A., Chupin V.V., Maslennikov I.V., Efremov R.G., Arseniev A.S. Dimeric structure of the transmembrane domain of glycoporphin a in lipidic and detergent environments // Acta Naturae. 2011. Vol. 3, № 2. P. 90–98.

2. **Mineev K.S.**, Khabibullina N.F., Lyukmanova E.N., Dolgikh D.A., Kirpichnikov M.P., Arseniev A.S. Spatial structure and dimer--monomer equilibrium of the ErbB3 transmembrane domain in DPC micelles // Biochim. Biophys. Acta. 2011. Vol. 1808, № 8. P. 2081–2088.

3. Manni S., **Mineev K.S.**, Usmanova D., Lyukmanova E.N., Shulepko M.A., Kirpichnikov

M.P., Winter J., Matkovic M., Deupi X., Arseniev A.S., Ballmer-Hofer K. Structural and functional characterization of alternative transmembrane domain conformations in VEGF receptor 2 activation // *Structure*. 2014. Vol. 22, № 8. P. 1077–1089.

4. **Mineev K.S.**, Lesovoy D.M., Usmanova D.R., Goncharuk S.A., Shulepko M.A., Lyukmanova E.N., Kirpichnikov M.P., Bocharov E.V., Arseniev A.S. NMR-based approach to measure the free energy of transmembrane helix–helix interactions // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 2014. Vol. 1838, № 1. P. 164–172.

5. **Mineev K.S.**, Goncharuk S.A., Arseniev A.S. Toll-like receptor 3 transmembrane domain is able to perform various homotypic interactions: an NMR structural study // *FEBS Lett*. 2014. Vol. 588, № 21. P. 3802–3807.

6. **Mineev K.S.**, Goncharuk S.A., Kuzmichev P.K., Vilar M., Arseniev A.S. NMR Dynamics of Transmembrane and Intracellular Domains of p75NTR in Lipid-Protein Nanodiscs // *Biophys. J*. 2015. Vol. 109, № 4. P. 772–782.

7. **Mineev K.S.**, Panova S.V., Bocharova O.V., Bocharov E.V., Arseniev A.S. The Membrane Mimetic Affects the Spatial Structure and Mobility of EGFR Transmembrane and Juxtamembrane Domains // *Biochemistry*. 2015. Vol. 54, № 41. P. 6295–6298.

8. **Mineev K.S.**, Nadezhdin K.D., Goncharuk S.A., Arseniev A.S. Characterization of Small Isotropic Bicelles with Various Compositions // *Langmuir*. 2016. Vol. 32, № 26. P. 6624–6637.

9. **Mineev K.S.**, Nadezhdin K.D. Membrane mimetics for solution NMR studies of membrane proteins // *Nanotechnology Reviews*. 2017. Vol. 6, № 1. P. 13–32.

10. **Mineev K.S.**, Nadezhdin K.D., Goncharuk S.A., Arseniev A.S. Façade detergents as bicelle rim-forming agents for solution NMR spectroscopy // *Nanotechnology Reviews*. 2017. Vol. 6, № 1. P. 93–103.

11. **Mineev K.S.**, Goncharuk S.A., Goncharuk M.V., Volynsky P.E., Novikova E.V., Arseniev A.S. Spatial structure of TLR4 transmembrane domain in bicelles provides the insight into the receptor activation mechanism // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7, № 1. P. 6864.

12. Kot E.F., Goncharuk S.A., Arseniev A.S., **Mineev K.S.** Phase Transitions in Small Isotropic Bicelles // *Langmuir*. 2018. Vol. 34 № 11 P. 3426–3437

13. Kot E.F., Arseniev A.S., **Mineev K.S.** Behavior of Most Widely Spread Lipids in Isotropic Bicelles // *Langmuir*. 2018. Vol. 34, № 28. P. 8302–8313.

14. Bragin P.E., Kuznetsov A.S., Bocharova O.V., Volynsky P.E., Arseniev A.S., Efremov R.G., **Mineev K.S.** Probing the effect of membrane contents on transmembrane protein-protein interaction using solution NMR and computer simulations // *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2018. Vol. 1860, № 12. P. 2486–2498.

15. Nadezhdin K.D., Goncharuk S.A., Arseniev A.S., **Mineev K.S.** NMR structure of a full-length single-pass membrane protein NRADD // *Proteins*. 2019. Vol. 87. №. 9. P. 786–790

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. **Отзыв официального оппонента Финкельштейна А.В., отзыв положительный, содержит следующие замечания:** 1. Диссертант упустил возможность более внимательно рассмотреть интересную аналогию между хорошо известными переходами типа "все-или-ничего" в глобулярных белках и открытыми им переходами типа "все-или-ничего" в бицеллах. 2. Есть замечания к оформлению работы, вместо термина "свободная энергия" употребляется просто слово "энергия", что путает читателя. 3. Представленные в диссертации картинки структур не показаны в виде стереоизображений (так что красота этих трехмерных объектов теряется) и не проиллюстрированы типичными для ЯМРовских работ наложениями друг на друга всего множества ходов цепи, совместимых с результатами ЯМР-спектроскопии. 4. Оппонент высказал ряд замечаний к шестой главе работы, в частности к

использованию свободной энергии для описания процесса димеризации мембранных белков в мицеллах и бицеллах.

2. Отзыв официального оппонента Аганова А.В., отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1. Есть ряд замечаний к оформлению работы и точности формулировок, к некоторым используемым терминам и сокращениям. 2. Найдена опечатка в формуле 31. 3. В диссертации отсутствует иллюстрация, которая подтверждает, что параметр λ модели идеальной бицеллы коррелирует с массой молекулы детергента. 4. Оппонент предлагает использовать уравнения Эйринга и Вин-Джонса вместо уравнения Аррениуса для анализа равновесной кинетики димеризации трансмембранных доменов в бицеллах.

3. Отзыв официального оппонента Багрянской Е.Г., отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1. Оппонент задается вопросом, можно ли использовать параметры подвижности амидных групп белка для предсказания интерфейсов димеризации мембранных белков. 2. В диссертации не предложено объяснения для аномалии химического сдвига C_{α} в неупорядоченном домене рецептора p75NTR. 3. Имеются мелкие замечания по оформлению.

4. Отзыв ведущей организации, отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1. Составители отзыва задаются вопросом о необходимости коррекции коэффициентов диффузии частиц для учета нарушения диффузии из-за высоких концентраций. 2. Не вполне очевидно, может ли разработанный подход для построения димеров мембранных доменов на основании параметров подвижности метильных групп белка быть перенесен на белки других классов. 3. Автор не оценил точность представленных методов для заселенностей олигомерных состояний мембранных белков по спектрам ЯМР. 4. В тексте диссертации есть несколько опечаток.

5. Отзыв на автореферат заведующего кафедрой биофизики Физтех-школы физики и исследований им. Ландау Федерального государственного учреждения высшего образования "Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)", д.х.н. Чупина Владимира Викторовича. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

6. Отзыв на автореферат профессора кафедры ядерно-физических методов исследования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Санкт-Петербургский государственный университет", д.ф.-м.н. Чижика Владимира Ивановича. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: отсутствуют расшифровки сокращений в тексте; содержание 8-ой главы (Экспериментальная часть) не отражено в тексте; имеется ряд стилистических и грамматических погрешностей.

7. Отзыв на автореферат ведущего научного сотрудника Факультета Фундаментальной

Медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова" д.х.н. Польшакова Владимира Ивановича. Отзыв положительный замечаний не содержит.

8. Отзыв на автореферат заведующего лабораторией ядерного магнитного резонанса Научно-исследовательского института физической и органической химии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Южный федеральный университет", к.х.н. Бородкина Геннадия Сергеевича. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их достижениями в областях науки, соответствующих теме представленной диссертации. Это подтверждается наличием у них значительного количества публикаций в ведущих российских и международных научных журналах и изданиях. Сотрудниками ИНЭОС РАН на протяжении многих лет ведутся работы в области ЯМР-спектроскопии высокого разрешения. Научные интересы Финкельштейна А.В. связаны с изучением процессов укладки третичной структуры белков. Багрянская Е.Г. занимается исследованием структуры белков с использованием электронного парамагнитного резонанса. Аганов А.В. является одним из ведущих российских специалистов в области ЯМР-спектроскопии, занимается в том числе изучением олигомеризации мембрано-связанных пептидов и белков. Наличие значительного опыта и высокой квалификации в указанных областях позволяет им объективно судить о научной новизне, а также теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных Минеевым К.С. исследований ему удалось разработать набор новых методов биоорганической химии, с помощью которых был получен ряд важных научных результатов:

Была разработана методология для исследования структуры частиц мембраноподобных сред. Предложены новые составы липидных бицелл с улучшенными свойствами, способные сохранять нативную укладку водорастворимых доменов белков. Разработана линейка методов для исследования структуры олигомеров мембранных белков, основанных на применении ЯМР-спектроскопии. Предложены подходы для описания равновесия между олигомерными формами белка в мембраноподобных средах в терминах свободной энергии взаимодействия. Указанные методы и подходы являются новыми и не имеют аналогов. Их практическое значение также не вызывает сомнений - разработанная методология может применяться для исследования пространственной структуры и механизмов функционирования мембранных белков, а также для изучения взаимодействий между мембранными белками и для рационального поиска новых лекарственных средств.

С использованием разработанных методик были получены новые фундаментально

значимые результаты. Так, было впервые показано, что изотропные бицеллы малого размера содержат участок липидного бислоя, в котором могут происходить фазовые переходы липидов между гелевым и жидко-кристаллическим состояниями. Внутри бицелл трансмембранные белки окружены в основном фосфолипидами. Для большинства распространенных фосфолипидов были впервые описаны параметры формируемых ими бицелл. Впервые определены структуры 12 димеров и тримеров мембранных доменов рецепторных тирозинкиназ и толл-подобных рецепторов. Построена первая модель полноразмерного белка семейства TLR, основанная на экспериментальных данных обо всех трех его доменах. Применение методик позволило изучить влияние липидного состава мембран на структуру и стабильность димера рецептора HER4, исследовать механизм онкогенного действия мутаций в трансмембранном домене рецептора VEGFR2. Предложенные в диссертации подходы были использованы для изучения сложных систем на границе области применения ЯМР-спектроскопии - многодоменных фрагментов мембранных белков, что позволило установить взаимосвязь между состояниями трансмембранного и внутриклеточного доменов таких рецепторов, как HER2 и p75NTR, выдвинуть новые гипотезы о механизмах их активации, которые подтверждаются экспериментальными данными. В целом, представленные соискателем результаты позволили изучить базовые принципы трансмембранных спираль-спиральных взаимодействий в мембранных белках, что является необходимым шагом для предсказания структуры мембранных белков методами компьютерного моделирования.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что работа выполнена на высоком экспериментальном уровне, результаты воспроизводимы в различных условиях, а методы исследования, предложенные и разработанные соискателем, прошли независимую экспериментальную проверку в лабораториях по всему миру и используются повсеместно.

Личный вклад соискателя состоит в том, что он принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов. Весь экспериментальный материал получен лично автором и аспирантами и студентами под его руководством. Анализ полученных данных проведен лично соискателем, кроме того, подготовка основных публикаций по диссертационной работе выполнена лично или при активном участии автора.

На основании вышеизложенного диссертационный совет Д 002.019.01 заключает, что диссертационная работа **Минеева Константина Сергеевича** является законченной научно-квалификационной работой в области биоорганической химии и вносит существенный вклад в развитие ЯМР-спектроскопии и структурной биологии мембранных белков.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, личному вкладу и полноте изложения результатов диссертация отвечает требованиям пп. 9-14 "Положения о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от

24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

На заседании 16 сентября 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Минееву Константину Сергеевичу ученую степень доктора химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 9 докторов наук (по специальности диссертации 02.00.10 – Биоорганическая химия), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – 0, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор физ.-мат.наук

Олейников В.А.

17.09.2020 г.

