

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

СТЕНОГРАММА

заседания Диссертационного совета Д 002.019.01 при ИБХ РАН

«30» сентября 2020 года

Защита диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук

Капустина Дмитрия Валерьевича

**по теме: Фторполимер- и полианилинсодержащие композиты как
эффективный инструмент молекулярной биотехнологии**

Специальности: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)
и 02.00.06 - высокомолекулярные соединения

Москва 2020

СТЕНОГРАММА

заседания Диссертационного совета Д 002.019.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 30 сентября 2020 года.

Председатель диссертационного совета
академик РАН

Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор физико-математических наук

Олейников В.А.

Из 35 членов совета присутствует 25 человек, из них докторов по профилю диссертации: 7 - по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 5 - по специальности 02.00.06 - высокомолекулярные соединения.

1. Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2. Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
3. Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
4. Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06)
5. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
6. Академик РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
7. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
8. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
9. Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
10. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
11. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
12. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
13. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
14. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
15. Д.х.н.	Смирнов Иван Витальевич	(02.00.10)
16. Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
17. Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
18. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
19. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)
20. Д.х.н.	Ямпольский Илья Викторович	(02.00.10)
21. Д.х.н.	Кузнецов Александр Алексеевич	(02.00.06)
22. Д.х.н.	Лозинский Владимир Иосифович	(02.00.06)
23. Д.х.н.	Межуев Ярослав Олегович	(02.00.06)
24. Член-корр. РАН	Чвалун Сергей Николаевич	(02.00.06)
25. Д.х.н.	Черникова Елена Вячеславовна	(02.00.06)

Председатель (Иванов В.Т.): Дорогие коллеги, доброе утро! Я докладываю, что у нас есть все основания притупить к работе. Спасибо, что в наше непростое время мы, тем не менее, обеспечиваем нормальную работу нашего ученого совета. Сегодня на повестке дня у нас по сути один вопрос: защита докторской диссертации Дмитрия Валерьевича Капустина. В свое время эта работа была представлена к защите. Есть один нюанс: работа будет защищаться по двум специальностям: биотехнология и высокомолекулярные соединения. Для того, чтобы наши выводы были легитимными, нам необходимо дополнить состав нашего ученого совета на данное заседание экспертами-специалистами в области второй специальности: высокомолекулярные соединения. У нас если есть – то их недостаточно в действующем совете, и у вас на руках у всех этот документ, где предлагаются конкретные кандидатуры, чтобы включить их в состав совета. Это эксперты разных учреждений уважаемых. Здесь и Химфак МГУ, и ИНЭОС, и Институт синтетических полимерных материалов, Химико-технологический университет им. Менделеева, в общем, все эксперты – члены диссертационных советов по данной специальности, и их присутствие позволило бы нам нормально проводить данную защиту. Полагается расширение состава нашего совета делать прямым голосованием. У всех на руках конкретные имена. Я могу, если позволите, без именотчетов, без регалий назвать фамилии, чтобы формально была возможность проголосовать «за» эти кандидатуры: Кузнецов, Лозинский, Межуев, Чвалун и Черникова. Пять человек, пять экспертов в этой области предлагается, и они дали согласие на то, чтобы быть сегодня в составе нашего совета. Давайте проголосуем «за» данное предложение и будем двигаться дальше. Кто «за» то, чтобы расширить состав данного совета на пять человек? Кто «против»? Кто «воздержался»?.. Единогласно. Мы провели данную акцию, а теперь переходим собственно к защите. Владимир Александрович, материалы личного дела.

Ученый секретарь (Олейников В.А.): Материалы личного дела. Капустин Дмитрий Валерьевич. Российская Федерация. Окончил в 1993 г. Московский институт тонких химических технологий им. Ломоносова по специальности «Химическая технология высокомолекулярных соединений». С 1993 г. по 2009 г. – стажер-исследователь, инженер, младший научный сотрудник, научный сотрудник, а с 2009 г. по настоящее время – старший научный сотрудник лаборатории «Полимеры для биологии» нашего института – ИБХ РАН. В 2000 г. он защитил кандидатскую диссертацию на тему «Синтез композиционных сорбентов на основе фторированных полибутадиенов для выделения нуклеиновых кислот» по специальности 02.00.06 – химия высокомолекулярных

соединений. Докторская диссертационная работа выполнена в лаборатории «Полимеры для биологии» нашего института. Научный консультант диссертационной работы – доктор химических наук профессор Виталий Павлович Зубов. По теме диссертации опубликовано 27 печатных работ, в том числе 19 статей в рецензируемых научных журналах, 7 патентов и одна глава в книге. Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя, а именно 21 мая 2020 г., и все необходимые документы в деле есть.

Председатель (Иванов В.Т.): Есть ли какие-то вопросы, уточнения, комментарии? Обычно не бывает. Сегодня, похоже, не исключение. Тогда, Дмитрий Валерьевич, вам слово для доклада – 40 минут.

(Соискатель - Капустин Д.В. - излагает основные положения диссертационной работы.)

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо за доклад. Почти уложились во время. Хотя чуть-чуть замедлили, но ничего страшного. У кого есть вопросы? Николай Владимирович, давайте к микрофону. Количество вопросов не ограничено.

Бовин Николай Владимирович: Первый вопрос такой. Вы фактически только констатировали факт, что фторсодержащие полимеры и полианилин обладают избирательностью в отношении к белкам и к нуклеиновым кислотам. Я не услышал физико-химических обоснований, почему такие свойства есть у этих полимеров. Не могли бы вы хотя бы кратко это рассказать.

Соискатель (Капустин Д.В.): Благодарю за вопрос. Я скомкал несколько свой доклад вначале, хотя в диссертации имеется целый раздел по исследованию механизма сорбции биополимеров на подобных материалах. Коротко говоря, следует отметить, что механизм сорбции в этом случае сложен - он определяется такими факторами, как гидрофобные взаимодействия (особенно это проявляется при использовании фторполимерсодержащих материалов), такими факторами как диполь-дипольное взаимодействие, и, разумеется, обратимым образованием водородных связей. В частности, белки на полианилинсодержащих поверхностях в первую очередь удерживаются за счет образования водородных связей с участием вторичных аминогрупп на поверхности полимера и, очевидно, боковых заряженных остатков молекул белков, таких как глютаминовая кислота, например. При понижении рН среды происходит десорбция, по-видимому, как раз за счет разрушения образующихся в нейтральных средах водородных связей. В случае фторполимерсодержащих материалов, как я уже сказал, речь идет в

первую очередь о гидрофобных взаимодействиях, и отчасти это подтверждается с одной стороны, более эффективной сорбцией на таких материалах БСА, который являлся наиболее гидрофобным белком их всех исследованных белков, а с другой стороны – наиболее эффективной сорбцией РНК, которая, имеет одноцепочечные последовательности в составе, не стабилизированные водородными связями, т. е. некие гидрофобные участки. Я бы так ответил на этот вопрос.

Бовин Николай Владимирович: Хорошо. Тогда второй вопрос. Я бы выделил в вашей работе часть по разделению биологических компонентов на модельной системе, скажем БСА плюс нуклеиновая кислота, и потом сразу идут такие сложные системы как лизаты бактерий или кровь человека. Я не увидел промежуточной стадии, которая мне представляется абсолютно необходимой, т. е. стадии, когда вы показываете, что определенные классы конкретных биологических молекул с определенной структурой сорбируются или не сорбируются. Я хотел бы услышать (может быть это сделано, но не прозвучало). В частности, меня интересуют такие важные для функционирования клетки часто встречающиеся белки как муцин и протеогликаны, которые отличаются от более привычных белков тем, что они очень полярные и отрицательно заряженные, т. е. они во многом похожи на нуклеиновые кислоты. Вы специально исследовали сорбирующую способность ваших материалов в отношении таких белков?

Соискатель (Капустин Д.В.): Спасибо за вопрос. Специально мы таких исследований не проводили, однако мы всегда оценивали степень удерживания суммарной белковой фракции и подтверждали результаты фореом в полиакриламидном геле, и если мы не видели полного отсутствия каких-то белковых примесей, то мы считали, что протокол не «доведен до ума» и требует оптимизации. Те модельные белки, которые мы исследовали – их было гораздо больше – однако время, отведенное на доклад, не позволяет обо всем рассказывать. Мы использовали различные белки по кислотности, по гидрофобности, по молекулярной массе, и пытались выяснить, какая из характеристик в наибольшей степени ответственна за сорбцию в тех или иных условиях на той или иной полимерной поверхности. Несколько скомкано, я согласен, прозвучало о результатах использования моделей и реальных смесей. Просто стояла проблема, в какой последовательности доложить о результатах. Я решил, что проще сначала говорить о выделении из бактерий, затем о выделении из вирусов, потом о выделении из более сложных объектов, таких как ткани растений и животных, хотя понятно, что исторически это было немного не так.

Бовин Николай Владимирович: Хорошо, тогда то же самое касательно еще двух классов биосоединений – это малые РНК, например, малые информационные РНК. Есть какие-то особенности их выделения?

Соискатель (Капустин Д.В.): Особенности такие. Перед нами была поставлена задача по выделению таких объектов, но предварительно требовалось (они все-таки минорные) концентрирование. Проблема в том, что если использовать именно полианилинсодержащие матрицы, на первом этапе нам удастся в принципе количественно удерживать (сорбировать) РНК, затем приходится очень тщательно подбирать условия для элюции – тот объем наносимого слабого буфера или воды, который позволяет хотя бы 90% этих молекул снять с поверхности сорбента. Это возможно, но требует очень тщательного подбора условий, которые могут изменяться в зависимости от свойств объекта. Т. е. такого универсального решения, которое в любом случае может сработать, я не могу дать.

Бовин Николай Владимирович: И последний объект – это микровезикулы, которыми клетки обмениваются, и обмениваются нуклеиновыми кислотами. Это физиологически важные процессы обмена такими материалами между клетками. Вы специально не изучали сорбцию клеточных микровезикул на ваших сорбентах?

Соискатель (Капустин Д.В.): Нет, не изучали. Как я сказал в заключительной части доклада, мы только начали переходить к более сложным и крупным объектам, таким как вирусные частицы, и в планах стоит исследование взаимодействий с клетками. Возможно, тогда интересно будет обратиться к таким везикулярным системам, к липосомам, например, к везикулам.

Бовин Николай Владимирович: Если позволите, еще один «микровопрос»: правильно ли говорить о полимеризации анилина, или это больше поликонденсация.

Соискатель (Капустин Д.В.): Правильно. Это – окислительная осадительная полимеризация.

Бовин Николай Владимирович: Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Да, прошу!

Черникова Елена Вячеславовна: Спасибо, у меня несколько синтетических вопросов, если позволите. Скажите, пожалуйста, вы оценивали степень прививки ваших полимеров на кремнеземы?

Соискатель (Капустин Д.В.): Сейчас скажу. В случае полианилина – мы говорим о полианилине, поскольку фторполимеры мы наносили методом кастинга – это были готовые полимеры, соответственно, сколько внесли (перед этим обработали систему ультразвуком, удалили растворитель) – столько и получили. Хотя какие-то методические потери, конечно, бывают. А в случае полианилина, когда речь идет о полимеризации при использовании активированных тем или иным способом матриц, удается повысить расход мономера на образования покрытия как минимум до 80%. А в случае, как я уже

говорил, использования не активированных матриц, как минимум 60% мономера уходит на образование частиц в объеме, а не на поверхности. Это - в случае полианилина. Если говорить о прививке – то речь идет о радиационной полимеризации. Это – не наша тема. Мы использовали этот материал как эталон для сравнения. Этим занимался доктор Муйдинов.

Черникова Елена Вячеславовна: Спасибо. А примеси гомополимера на поверхности там есть? Или это просто не смотрели.

Соискатель (Капустин Д.В.): Опять-таки, это – не наша тема, но я могу ответить на вопрос. Примеси гомополимера там есть при использовании определенных режимов. В принципе, добавляют сомономер – гексафторпропилен – для того чтобы терминировать рост цепи и не приводить к неконтролируемому росту содержания гомополимера. Мы непосредственно не разрабатывали эти методики, но просто использовали конечный результат.

Черникова Елена Вячеславовна: Понятно. Спасибо. Я так понимаю, что эти примеси гомополимера не влияют на свойства?

Соискатель (Капустин Д.В.): Во-первых, есть режим – «совместный радиолиз» так называемый - когда на поверхность кремнезема намораживается слой сомономера, затем полученная система облучается γ -источником, а потом происходит медленный разогрев до комнатной температуры. Вот в этом случае никаких проблем с прививкой не возникает. И можно получать сополимер, если добавить тот же гексафторпропилен или аллиламин, например. Это показано как раз в работах Муйдинова.

Черникова Елена Вячеславовна: Спасибо. И последний вопрос: а сколько минимально нужно полимера на поверхности кремнезема, чтобы получить этот комплекс свойств? Оценивали вы это?

Соискатель (Капустин Д.В.): Спасибо за вопрос. Конечно, оценивали. Это зависит, во-первых, от свойств матрицы. В зависимости от пористости объемно-пористые кремнеземы характеризуются определенной площадью поверхности и средним эффективным диаметром пор. При формировании на поверхности такого носителя полимерного покрытия понятно, что диаметр пор будет уменьшаться за счет толщины этого покрытия. Это четко определяется методом ртутной порометрии. И мы видим, что одновременное сопоставимое уменьшение диаметра пор и площади поверхности носителя свидетельствует о том, что полимер наносится не только на внешнюю поверхность частиц, но и на внутреннюю поверхность пор. И составляет эта величина в среднем от 3 до 10 нм (где-то до 100 ангстрем), и прививается, точнее – иммобилизуется - порядка от 20 до 25 % масс. в отношении массы получаемого сорбента.

Черникова Елена Вячеславовна: Т. е вы использовали эти данные для того, чтобы получить готовые композиты с оптимизированным составом.

Соискатель (Капустин Д.В.): Да, для того, чтобы загрузку рассчитать, себестоимость и т. д. – это важно.

Черникова Елена Вячеславовна: Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Да, прошу!

Межуев Ярослав Олегович: В литературе имеются обширные сообщения о получении интерполимерных комплексов полианилин-ДНК. Вы же использовали «негативную» пропись. Скажите, пожалуйста, вы, наверное, это достигали за счет поддержания какого-то определенного уровня протонирования цепи полианилина? И если – да, и если он контролировался, то какой он был?

Соискатель (Капустин Д.В.): Я понял. Дело в том, что сорбционные свойства полианилиновых покрытий вообще-то различаются в зависимости от того, в каких условиях мы это покрытие формируем. Если конечный продукт отмывается и очищается из сильнокислой среды (понятно, что вы знаете, что он даже и окраску меняет - он будет зеленым, синим или фиолетовым в зависимости от того что там – основание или соль или что-то другое). Так вот. Сорбционные свойства – эффект «негативной селекции» в отношении двунитевых ДНК - проявляется при проведении финальной стадии синтеза в кислых условиях. Соответственно, достаточно высокая степень протонирования должна быть у продукта.

Межуев Ярослав Олегович: Это достаточно странно, потому как известно...[пауза]. Хотя почему бы и нет. Второй вопрос.

Соискатель (Капустин Д.В.): У нас были разные подходы. В одном случае мы не отмывали продукт от кислоты – просто смывали водой, сушили и использовали «зеленый» материал. Если мы хотели терминировать через определенный промежуток времени полимеризацию анилина, то мы помещали всю систему в щелочные условия – заливали аммиаком (грубо говоря). В этом случае получали самые разные материалы – от фиолетового до черного, которые не всегда устойчивы и, соответственно, на таких материалах не всегда удается достичь этого эффекта.

Межуев Ярослав Олегович: Понятно.

Соискатель (Капустин Д.В.): Более того, в некоторых случаях такой материал может быть непригоден, поскольку при контакте с ДНК может происходить апуринизация нуклеиновой кислоты.

Межуев Ярослав Олегович: У меня есть второй вопрос. Вы значительные усилия в работе затратили на то, чтобы обеспечить локализацию реакционной зоны

окислительной полимеризации у поверхности подложки. Ну, по крайней мере, этому было уделено значительное внимание в докладе. Скажите, пожалуйста, а насколько это является принципиальным для того, чтобы достичь разделительных свойств. Ведь на самом деле, потратим мы чуть больше анилина, чуть меньше анилина – кажется, это не принципиально. Какая будет полнота реакции соответственно на подложке и какая в объемной фазе. Единственное, что может сильно меняться – это морфология, но она имеет существенное значение для сорбционных свойств или нет?

Соискатель (Капустин Д.В.): Спасибо. Морфология не существенна, кстати, я об этом не сказал, но я немного перескочу. Мы сравнивали влияние химического состава и структуры полимерного модификатора на сорбционные свойства и влияние морфологии поверхностного слоя. И выяснилось, что первый фактор оказывает весьма значительное влияние наряду со свойствами молекул сорбата, но второй фактор - морфология – фактически не оказывает влияния. Это – к заключительной части вопроса. А что касается первой части – понимаете, здесь важно было разработать с одной стороны, более технологичный способ получения таких композитов, а ведь в процессе получения таких материалов важен не только сам синтез, не только «прямой» синтез или синтез в присутствии не активированной матрицы, но очень важна стадия очистки и отмывки продукта. Если мы используем не активированные матрицы, то на свойствах сорбента это, в принципе, не сказывается, но образующиеся в реакционном объеме частицы (они мелкие, их очень много, они забивают поры, если речь идет о пористой подложке – их очень сложно отмывать – практически на 100% отмыться от их невозможно, даже если использовать какие-то мыла, ПАВы и проч. Поэтому нам необходимо было найти способ активации, который позволял бы полимеризовать примерно то количество мономера, которое мы берем в реакцию.

Межуев Ярослав Олегович: Спасибо, мы просто тоже над этим активно работаем, но несколькими другими методами.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Да, Роман Гербертович.

Ефремов Роман Гербертович: Я хотел бы вернуться к первому вопросу, который Николай Владимирович все-таки задал, потому что я считаю, что вопрос имеет фундаментальное значение. Вот процесс адсорбции – это всегда результат межмолекулярного взаимодействия. И в чем причина вот такой селективности к белкам и к нуклеиновым кислотам. Вы сказали, что гидрофобные есть взаимодействия, ван-дер-ваальсовы и энтропийные факторы, электростатические взаимодействия, водородные связи в том числе, но в тех смесях, с которыми вы работаете – клеточные лизаты, кровь и т. д. – там масса конкурентов у белков и нуклеиновых кислот. Т. е. всегда

межмолекулярные взаимодействия – это как бы игра, это вклад обоих партнеров, т. е. поверхности и адсорбируемого вещества. Правильно ли я понимаю, что морфология поверхности особой роли не играет. Вот что вы понимаете под морфологией? Потому что если сорбируются преимущественно белки определенного размера, наверное, все-таки, с определенной организацией поверхности, но при этом они конкурируют и вытесняют другие соединения, которых масса присутствует в этой смеси, которые тоже образуют водородные связи, у них есть гидрофобные группы и т. д. Т. е., наверное, вот эта ответная часть – поверхность – она должна быть каким-то образом организована, т. е. на ней должны какие-то молекулярные патерны присутствовать, которые комплементарны патернам в белках и нуклеиновых кислотах. Вот, скажем, если вы возьмете пептиды, которые не имеют упорядоченной структуры в воде и белки (альбумины). Вот пептиды – они сорбируются селективно? Там те же самые группы, физическое взаимодействие которых с поверхностью – то же самое. Но разница есть?

Соискатель (Капустин Д.В.): Пептиды тоже сорбируются. Но обратимо, впрочем, так же, как и белки.

Ефремов Роман Гербертович: За счет чего селективность достигается?

Соискатель (Капустин Д.В.): Ну, мы говорим о селективности в одном случае – при разделении нуклеиновых кислот и белков: белки удерживаются, нуклеиновые кислоты не удерживаются. Кстати, в случае полианилина скорее всего это происходит из-за того, что макромолекула полианилина – полисопряженная, т. е. электронная плотность распределена не только по самой молекуле, но также есть работы, в которых доказано, что это происходит между отдельными макромолекулами, т. е. нет локализованного заряда положительного. И поэтому, очевидно, здесь не хватает локализованного положительного заряда для того, чтобы эффективно удерживать отрицательно заряженную ДНК.

Ефремов Роман Гербертович: Отрицательно заряженная ДНК окружена противоионами, т. е. там электростатическое взаимодействие очень сильно экранировано.

Соискатель (Капустин Д.В.): Да, конечно, но опять-таки, если мы говорим о каких-то модельных смесях – там можно учесть достаточно много факторов аккуратно, но если мы говорим о такой сложной системе как лизат крови, растительной ткани или еще чего-то, то конечно, там масса одновременно конкурирующих процессов сорбционных происходит, и тут сложно учесть нюансы.

Ефремов Роман Гербертович: Сухой остаток. Если бы вам предложили создать для адсорбции селективной какого-то конкретного белка, структуру которого вы можете как-

то оценить, нужную структуру поверхности с использованием ваших полимеров вы можете задать, теоретически хотя бы это сделать?

Соискатель (Капустин Д.В.): Здесь следует заниматься какими-то аффинными матрицами, если речь идет о конкретном белке с конкретной группой ...

Ефремов Роман Гербертович: или о группе белков...

Соискатель (Капустин Д.В.): или о конкретном белке с определенным активным центром в определенной конформации. Что касается наших исследований, говорить о селективности сорбции конкретных белков и последовательной десорбции наверное имеет смысл, учитывая условия, в которых это разделение проводится. Т. е. в первую очередь - рН среды, поскольку разделение происходит в зависимости от значения изоэлектрической точки белка, т. е. от заряда, но не от массы. Поэтому – это сложный вопрос. Нужно смотреть на конкретную систему.

Ефремов Роман Гербертович: Понятно, спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): У меня сходный вопрос. Ведь белки образуют комплекс с нуклеиновыми кислотами – и он довольно устойчивый. Если такой комплекс образовался, куда пойдет белок – в нуклеиновую фракцию или в белковую фракцию?

Соискатель (Капустин Д.В.): Вадим Тихонович, прежде чем проводить выделение, мы лизируем образцы.

Председатель (Иванов В.Т.): Т. е. у вас пробоподготовка предусматривает разрушение нуклеопротеидных комплексов?

Соискатель (Капустин Д.В.): Да. С целью разрушения таких комплексов и высвобождения нуклеиновых кислот.

Председатель (Иванов В.Т.): Ну, понятно. Да, прошу.

Кузнецов Александр Алексеевич: У меня вопрос по арамидам. У вас достаточно специфический набор и такие достаточно необычные арамидные сорбенты, которые имеют такую «мозаичную» структуру: у вас есть сильно выраженный электронодонорный мотив здесь в аминном фрагменте и акцепторный с большим сродством к электрону фрагмент во второй части. И, кроме того, там где-то есть амидная связь. Это некоторые случайные компоненты вашего выбора этих объектов? Играет ли роль именно такая мозаичность или наличие амидных связей или это как бы только пример того, что такие соединения можно использовать?

Соискатель (Капустин Д.В.): Это, скорее, как пример, того, что эти соединения можно использовать. Нам давали на выбор наши коллеги из Тайванского университета, если не ошибаюсь, 160 подобных соединений. Вот мы из них выбрали те, которые обладали более или менее сходной структурой, чтобы можно было их как-то сравнивать.

Кузнецов Александр Алексеевич: Т. е. вы 160 «прогнози»?

Соискатель (Капустин Д.В.): Мы не «прогнози». Мы смотрели на структуры и из всех структур заказали у них вот эти. Они были совершенно все разные.

Кузнецов Александр Алексеевич: Понятно. Я эти работы видел. У них эти соединения для фотовольтаики, что-то для совсем других применений.

Соискатель (Капустин Д.В.): Профессор Льяо занимается этим.

Кузнецов Александр Алексеевич: И хорошо, второй вопрос: у вас в автореферате мне встретилась такая формулировка: «молекулярная гидрофобность». Вот что это такое и как вы ее измеряете, определяете, и с чем вы коррелируете это?

Соискатель (Капустин Д.В.): Знаете, мы ее не измеряем никак. Мы пользовались табличными данными из книги, опубликованной, если не ошибаюсь, в 2008 г. в Санкт-Петербурге...

Кузнецов Александр Алексеевич: Но это расчетная величина?

Соискатель (Капустин Д.В.): Да, это расчетные и эмпирические величины. Мы просто пытались сравнить по гидрофобности эти белки, используя чужие данные.

Кузнецов Александр Алексеевич: Тем не менее, вы взяли эту шкалу для получения каких-то корреляций с вашими результатами.

Соискатель (Капустин Д.В.): Мы определили, что наиболее гидрофобный их использованных белков – БСА – сорбируется на фторсодержащих фазах значительно сильнее, чем другие белки.

Кузнецов Александр Алексеевич: Понимаете, вопрос возник из-за чего: здесь в большой степени баланс неких разных взаимодействий: гидрофобных и специфических (водородных там, связей). Вот такая «молекулярная гидрофобность», как мне кажется, говорит... даже есть шкала для ПАВ – там есть гидрофобно-липофильный баланс. Там можно оценить какая часть за что отвечает. К чему это больше тянется. Потому что все эти соединения имеют функциональные группы на конце. Поэтому такое соединение как гидрофобное соединение с концевой группой – я думал, что гидрофобность - она не очень качественно определяет материал. Поэтому это немножко выглядит странно. Вот если корреляция такая получается у вас, то я с удовольствием буду это изучать.

Соискатель (Капустин Д.В.): Корреляция получилась, но посчитать там конкретно вклад не представляется возможным, т. е. математически определить, да и, наверное, не нужно.

Председатель (Иванов В.Т.): Да, пожалуйста.

Ямпольский Илья Викторович: Наука бывает фундаментальная – да? И прикладная. Вот фундаментальная наука – она отвечает, очевидно, на вопрос – как устроена природа,

и мы пытаемся понять вещи, какие уже есть в природе. Да? А прикладная – она – пытается сделать что-то полезное. Насколько я понимаю – судя по ссылкам основным – основные результаты у вас были в 2000-е годы получены. Пользу прикладного исследования можно объективно оценить как бы в рублях. У меня вопрос: ваши технологии – они где-то продаются, коммерциализованы ли патенты? Прошло уже довольно много времени. Сколько рублей вам и нашему институту в том числе принесли эти разработки? Спасибо.

Соискатель (Капустин Д.В.): Спасибо, Илья Викторович. Что касается практического использования. В течение 10-ти, неверное, лет, используется способ одновременного определения витаминов – такая есть московская компания – называется она «Центр биотической медицины». Дело в том, что начальная стадия исследования финансировалась этой организацией. Был заключен двусторонний договор между ИБХ РАН и этой компанией. В контракте были прописаны условия, что результаты они будут использовать сами. С началом «ковидной» эпопеи они разделяются на две части. Не знаю... Но лет 10 – 11 они постоянно использовали эти разработки. Это достаточно солидное частное медицинское учреждение. У них большой штат, производство большое. Второе направление – это мембранные сорбенты. На тех же условиях у нас было два или три договора, мы ездили неоднократно во Владимир – у них прекрасное производство, ничуть не хуже, чем, например, в Израиле или в Германии. Они готовы предоставить целый цех, чтобы запустить производство хоть сейчас, но у них случились непредвиденные финансовые трудности, в результате они сказали: «...приносите средства – мы сделаем...». Хотя целый цех у них фактически подготовлен. Они выпускают синтетические мембраны различного состава. Этот материал дешевый и может быть использован как замечательная замена достаточно дорогих объемно-пористых носителей. Это не планы. Тем не менее, пока мы разработали технологический регламент для них, в котором описано сколько чего брать, какие загрузки и т. д. Но средств, чтобы это запустить, у меня лично нет. Что касается других запатентованных объемно-пористых сорбентов, эти работы начали проводиться действительно достаточно давно, они почти все (кроме одного очень эффективного материала) запатентованы за границей. Компании-держатели патентов их используют, поддерживают. Держатель – не наш институт. Потому что работа в Германии проводилась, в компании MiGa-Diagnostika, позже это была компания NextTech GmbH, которая сейчас – часть Agrobiogen.

Ямпольский Илья Викторович: Вы, наверное, роялти получаете.

Соискатель (Капустин Д.В.): Где-то, что-то и как-то было чуть-чуть и неправда. Сейчас есть разработка – ФП-ПАНИ-сорбент. Мы его патентовали в рамках выполнения...

Ямпольский Илья Викторович: Извините, я может быть дотошно спрашиваю, может, про деньги нехорошо так спрашивать, но уже, как бы, коммерциализованы эти технологии или только в планах пока?

Соискатель (Капустин Д.В.): Ну, неужели вы думаете, что мне не интересно куда-то это запустить и производить – очень интересно. Витамины – коммерциализованы. В любой момент можно запустить линейку мембранных [материалов]. Более того, у нас есть подписанный в свое время Вадимом Тихоновичем регламент на опытно-лабораторное производство сыпучих ФП-ПАНИ-сорбентов, которые наиболее эффективны. Мы можем получать в месяц где-то 1.5 – 2 кг только на одной установке, а для одной «колонки» нужно только 100 мг, т. е. это – 10 000 колонок. Более того, мы проводили специально расчет себестоимости. В начале, когда мы использовали стандартный пластик, стоимость составляла без учета цены самой колонки где-то 16 центов на одно выделение. Сейчас нам удалось найти дешевый носитель и где-то 16-17 центов составляет стоимость уже с пластиком. Т. е. стоимость радикально снизилась. Мы ищем площадку, на которой можно было бы производить и через кого можно было бы продавать.

Ямпольский Илья Викторович: Это уже может быть дискуссия, но по стоимости можно говорить, когда уже что-то производится на рынке, а на этапе разработки...

Соискатель (Капустин Д.В.): Нет, себестоимость я имею в виду.

Ямпольский Илья Викторович: Ну, тем не менее. Я задаю такие вопросы, потому что я классифицировал такую работу для себя как прикладную. Или, может, я не прав, и она фундаментальная на самом деле.

Соискатель (Капустин Д.В.): Здесь есть аспекты и отчасти фундаментальные, когда речь идет о факторах, влияющих на взаимодействие биомакромолекул с такими разными по строению полимерными фазами, но и, разумеется, прикладной аспект – это методология их использования в составе различных биосепарирующих элементов разной конструкции, при использовании различных условий выделения и т. д. – т. е. разработка протоколов их использования.

Ямпольский Илья Викторович: Ну, если фундаментальная, то тогда можно задать вопросы (они отчасти уже прозвучали): как происходит дискриминирование между белками и ДНК, в каком спектре белки – очень разные бывают – и как Роман Гербертович говорил – пептиды - т. е. в фундаментальном плане много вопросов. Отчасти они уже заданы, поэтому я не буду их повторять. Еще хотел спросить, вот на слайдах с 34-го по 37-й – вот, собственно, это прикладные как бы результаты, да?

Тестирование вашей системы в действии на каких-то задачах, да? У вас на всех слайдах есть ссылки, а здесь ссылок нет.

Соискатель (Капустин Д.В.): Это мое упущение. Это опубликовано. Все данные опубликованы.

Ямпольский Илья Викторович: Это опубликовано? А где?

Соискатель (Капустин Д.В.): Гепатит – это Bioanalysis – британский журнал. Это проводилось в Институте переливания крови (он сейчас по-другому называется, это был Центр переливания крови)... Лаборатория ПЦР. Профессор Филатов ее возглавлял. Это – что касается гепатитов. Что касается туберкулеза – это «Синтол», что касается урогенитальных образцов – это компания «Генлаб». Которая готова покупать сорбенты.

Ямпольский Илья Викторович: Понятно, а вот эти три последние, которые вы назвали – там тоже есть публикации?

Соискатель (Капустин Д.В.): Это все опубликовано. Все, что здесь представлено – все опубликовано в тех или иных журналах.

Ямпольский Илья Викторович: Хотелось бы, конечно, конкретно понять, в каких, да?

Соискатель (Капустин Д.В.): Ну, вот список публикаций.

Ямпольский Илья Викторович: Ну, вот я почему спрашиваю – кульминация вашей работы – разрабатывали сорбент, и вот, наконец, мы его применили, и вот это и есть конечный результат. Он хорошо работает. Где можно прочитать про это в открытой печати?

Председатель (Иванов В.Т.): По-видимому, на память автор сейчас не берется...

Соискатель (Капустин Д.В.): Я уже назвал ряд... Acta Naturae - это о выделении ДНК из микобактерий туберкулезного комплекса, Bioanalysis – это выделение ДНК вируса гепатита В, какой там еще пример... «Вестник восстановительной медицины» - это о выделении витаминов. Соответственно, есть еще самообзоры, например, Nanocomposites and polymers with analytical methods – там большая часть подходов обсуждается.

Ямпольский Илья Викторович: Ну, наверное, это авторитетные издания, я просто не знаю...

Соискатель (Капустин Д.В.): Адсорбционные нюансы обсуждались неоднократно в Colloids and Surfaces. Series B. Еще готовы две публикации для этого журнала.

Ямпольский Илья Викторович: Понятно, спасибо. А можно еще 37-й слайд посмотреть? Ой, нет, вот где-то было, что ПЦР – 32 цикла.

Соискатель (Капустин Д.В.): Это делалось в Институте эпидемиологии. Мы передавали им колонки и хотели выяснить, влияет ли изменение вторичной структуры ДНК... на эффективность выделения. Оказалось, что и одноцепочечная циклически ДНК

выделяется также эффективно. Но вначале они ставили стандартную процедуру ПЦР, используя 35 циклов, но наблюдали некоторую невоспроизводимость результатов. С увеличением до 42 циклов эта проблема была снята.

Ямпольский Илья Викторович: Я не специалист в ПЦР, но мне кажется, что это многовато.

Соискатель (Капустин Д.В.): Это многовато по нынешним временам, лет десять назад это было совершенно нормально.

Соискатель (Капустин Д.В.): Ясно. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Есть ли еще? Да, прошу.

Мишаль Хаддаж (д.х.н. по специальности 02.00.06 - высокомолекулярные соединения, проф.): Я прошу 14-й слайд. Вы тут наглядно показываете отличия покрытия в случае... использования неактивного носителя и активного носителя, да? Но это схематически. Есть реальные картинки?

Соискатель (Капустин Д.В.): Это – идеализированная картинка, реальной картинке у меня в презентации нет, но мы делали микрофотографии. В принципе они там подтверждают подобную структуру. Главное подтверждение этой структуры, на мой взгляд, это сочетание двух методов – результатов ртутной порометрии и тестов на гидролитическую стабильность. Если бы мы имели структуру как на левом рисунке, то у нас кремнезем замечательно бы растворялся, ну, может быть, чуть медленнее, чем совсем не покрытый.

Мишаль Хаддаж: Понятно, но если бы были реальные, тогда было бы...

Соискатель (Капустин Д.В.): Ртутная порометрия доказывает, что сохраняется пористость при одновременной стабильности в щелочных условиях, который позволяет даже определить толщину покрытия. Можно говорить о том, что мы получаем именно такие структуры, по крайней мере, в случае использования пористых кремнезёмов.

Мишаль Хаддаж: Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): У нас сегодня очень большое количество вопросов и оживленная дискуссия. Но, похоже, тем не менее, что вопросы иссякли. Правильно я понимаю? Тогда спасибо. Можете немножечко отдохнуть. Если бы это была защита кандидатской диссертации, то я бы дал слово научному руководителю, но при защите докторской такого статуса нет, и поэтому, если Виталий Павлович хочет несколько слов сказать о диссертанте, то у нас будет общая дискуссия и там будет такая возможность. А сейчас давайте ознакомимся с отзывами. Тут несколько отзывов требуется нам учесть.

Ученый секретарь (Олейников В.А.): Ну, во-первых, заключение организации, где выполнялась работа. Работа выполнялась в нашем институте – Институте

биоорганической химии. У меня в руках заключение, обсуждение результата принято на открытом семинаре Отдела бионаноматериалов и бионанотехнологий и, соответственно, это заключение – оно полностью положительное и подтверждает качество данной работы. Ну, и начинается оно, естественно, с биографических данных, что в 2000 г. – это кандидатская была. Научный консультант данной работы – Виталий Павлович Зубов. Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета 27 июня 2018 г., и по итогам обсуждения принято следующее заключение. Во-первых, говорится, конечно, об актуальности исследования, она очевидна. Исследование направлено на разработку материалов и методологии, позволяющих реализовать одностадийную схему выделения целевого компонента смеси. Не менее актуальна разработка оптимальных протоколов пробоподготовки для выделения биополимеров из различных источников с помощью разрабатываемых биосепарирующих элементов с целью достижения заданных параметров выделения. Цель диссертационной работы состояла в разработке масштабируемых технологий получения поверхностно-модифицированных фторполимерами и/или полианилинами композиционных наноструктурированных сорбентов, демонстрирующих эффект «негативной селекции» в отношении нуклеиновых кислот. Ну, «негативная селекция» - это то, что мы с вами сегодня слышали. Пишется, что работа выполнена на высоком экспериментальном и методическом уровне. Далее достаточно подробно излагается то, что мы с вами сегодня слышали и вот некие моменты, о которых говорил Илья Викторович. Практическая значимость результатов исследования подтверждена рядом патентов, методов синтеза новых сорбционных материалов и протоколов их применения в практике аналитических и клинических лабораторий. Так, запатентованы способы получения и применения модифицированных сорбентов для одностадийного выделения ДНК из различных источников. Приводится список патентов: это патенты США – 4 штуки, патенты Российской Федерации – две штуки. Разработаны воспроизводимые протоколы одностадийного выделения ДНК из различных источников, включая «сложные» образцы, такие как лизаты растительных тканей, кровь человека и животных, пригодных для непосредственного использования в ПЦР-анализе. Изготовлены партии вот этих сорбентов. Разработаны протоколы одностадийного выделения ДНК различного происхождения - вирусная, бактериальная, низших грибов, растительная, животных, человека; из различных источников - лизаты растительной ткани, кровь, мокрота, урогенитальные мазки, пищевые продукты, пробы воздуха и воды, почвы. Разработанные протоколы одностадийного выделения ДНК возбудителей гепатита В, бактериальных и грибковых урогенитальных инфекций и туберкулеза человека и др. успешно апробированы в лабораторных условиях в Центре

Гематологии, ЗАО «НПФ Синтол» (Москва), ООО «НПФ ГенЛаб», ну и т. д. Тут целая серия организаций, о которых мы как раз только что слышали. Разработан биосепарирующий элемент, содержащий фторопласт-модифицированный сорбент и концентрирующий слой полимерных гранул, позволяющий в одну стадию выделять, очищать и концентрировать ДНК из лизатов бактериальных спор. Ну и тут целая серия еще достижений практических, и опять же, ссылки на SELDI-MS-масс-спектрометрию без добавления «вещества-матрицы», и это тоже запатентовано – это международный патент. Свойства разработанных композитов превосходят характеристики известных коммерческих брендов. Ну, исходя из вышеизложенного, можно утверждать, что диссертационная работа Капустина соответствует двум научным специальностям: 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 02.00.06 – высокомолекулярные соединения, а отрасль науки – это химические науки. Подготовлена в соответствие с требованиями, соответственно, приводится количество публикаций. Ну, и вывод, что заключение принято на открытом семинаре, присутствовало 23 человека, против – нет, воздержались – нет, и, соответственно, протокол. Председатель семинара подписал и зам. директора – Илья Викторович Ямпольский. Данное заключение утверждено директором нашего института – Габитовым Александром Габитовичем.

Теперь далее – отзыв ведущей организации. *(Излагает отзыв ведущей организации. Отзыв положительный)*. В качестве ведущей организации у нас выступает Российский химико-технологический университет им. Менделеева. Соответственно, отзыв полностью положительный. В начале подчеркивается важность методов молекулярной диагностики, ПЦР-анализа, и пишется, что выбор оптимального способа пробоподготовки биоматериала к ПЦР-исследованию нередко осложняется присутствием в пробе мощных ингибиторов полимеразы. Ну, и далее говорится о важности того подхода, который предлагает наш диссертант, и вот здесь конкретно пишется: диссертант пришел к справедливому заключению о том, что необходима новая методология получения сорбционных материалов и способов их применения, позволяющие реализовать одностадийную схему выделения нуклеиновой кислоты из образца в условиях, когда выделяемый биополимер после нанесения биологической пробы на сорбент не удерживается, а выходит, в то время как прочие компоненты пробы удерживаются сорбентом. Этот эффект назван автором диссертации «негативной селекцией». Ну, и далее подчеркивается, что работа отличается новизной, что эта работа междисциплинарная, что в ходе исследования диссертантом разработаны и масштабированы несколько технологических схем прямого синтеза

наноструктурированных полимерсодержащих сорбентов, в результате чего удалось совместить синтез макромолекул и получение наноструктурированного продукта с использованием различных твердых носителей, таких как объемно-пористые кремнеземы, синтетические мембраны, стеклянные мультикапилляры, кремниевые пластины и др. Капустиным убедительно продемонстрировано, что материалы, поверхностно модифицированными нанослоями этих полимеров, не удерживают двунитевую ДНК, слабо удерживают молекулы РНК и обратимо удерживают белковые молекулы. Обнаруженный эффект позволил автору впервые реализовать способы одностадийного выделения нуклеиновых кислот из биологических проб сложного состава. Технологические подходы к иммобилизации нанотолщинных полимерных покрытий на пористых и непористых носителях различной природы формально подразделяются на две группы. Ну, здесь вот то, что мы слышали – две группы вот этих вот сорбентов – я это немножечко опушу. Ну и о диссертации. Построена по традиционной схеме, библиографический список - 439 наименований. Ну, соответственно, рисунки, таблицы. Первая глава – обзор литературы. И нельзя не отметить, что представленный в диссертационной работе обзор литературы в значительной степени отражает хронологию развития подходов к синтезу сорбентов, что, несомненно, облегчило диссертанту задачу обоснования выбора носителей и полимерных модификаторов, использованных в исследовании. Ну, далее – вторая глава. Представлено детальное описание методов синтеза разработанных композитов. В третьей главе экспериментально подтверждает Капустин свое предположение о том, что эффект «негативной селекции» в отношении нуклеиновых кислот могут демонстрировать различные по химическому составу и структуре полимеры. Четвертая глава посвящена обсуждению разработанных в ходе исследования способов синтеза. Капустин с успехом использовал разработанные им материалы для решения разнообразных биотехнологических задач. Эффективность применения разработанных диссертантом материалов подтверждена как при использовании модельных, так и клинических образцов. Универсальность и высокая эффективность применения биосепарирующих элементов, содержащих разработанные сорбенты, продемонстрирована диссертантом на примерах выделения нуклеиновых кислот из проб. И опять же это серия различных типов проб – по происхождению, по своей структуре. И, в общем, все тут работает у него. И подводя итог, можно утверждать, что диссертационная работа Капустина Дмитрия Валерьевича является серьезным, законченным и практически полезным научным трудом.

Недостатки. Принципиальных замечаний по содержанию представленной диссертации нет, тем не менее, есть вопросы, которые следует пояснить:

1. Представляется уместным привести сравнительную оценку себестоимости мини-колонки с разработанными диссертантом сорбентами с представленными на рынке диагностическими наборами.

- Замечательный вопрос.

2. В тексте диссертации встречаются опечатки.

3. Некоторые ссылки на URL-адреса в списке литературы не являются активными.

- Ну, к сожалению, так действительно бывает.

И, естественно, заключение, что по своей актуальности, новизне, уровню изложения, теоретическому и практическому значению диссертация полностью соответствуют всем требованиям (в том числе п. 9) «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а сам автор Капустин Дмитрий Валерьевич заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора химических наук по этим указанным двум специальностям. Отзыв обсужден на Кафедре биоматериалов в Российском химико-технологическом университете имени Менделеева. Отзыв подготовил Михаил Исаакович Штильман, и отзыв утвержден проректором по науке этого университета доктором химических наук – Щербина подписала.

Председатель (Иванов В.Т.): Дмитрий Валерьевич, там было замечание – будете реагировать?

Соискатель (Капустин Д.В.): Спасибо, Владимир Александрович. Насколько я помню – первый вопрос касался себестоимости и сравнения с коммерческими наборами. В беседе с Ильей Викторовичем мы уже начали затрагивать этот вопрос. Я постараюсь кратко продемонстрировать сравнение. Вот на слайде представлен список ряда наборов для выделения ДНК, разработанных различными компаниями. И вот есть столбик со стоимостью ста выделений, соответственно, стоимость одного выделения – это не себестоимость, а стоимость - составляет примерно от 10 до 100, и даже до 180 евро. Как я уже говорил, одна наша мини-колонка без учета стоимости пластика стоит примерно 16 *центов*. Эта цена не изменяется уже в течение нескольких лет. Сейчас мы постарались снизить себестоимость и достигли того, что теперь наш сорбент без пластика стоит примерно 14 рублей на одно выделение и, соответственно где-то 50 *рублей* с учетом цены пластика. Надеюсь, я ответил на первый вопрос. Да, к сожалению, встречаются опечатки, даже в результаты многократных проверок все равно они были допущены. Страниц много – согласен. Что касается ссылок на интернет-издания. Дело в том, что рукопись была подготовлена фактически уже к концу прошлого года, а ссылки эти, скажем так,

«живут» где-то 6 – 9 месяцев, не больше. Очевидно, что некоторые уже не доступны. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. У нас есть отзывы на автореферат. Нам необходимо с ними ознакомиться.

Ученый секретарь (Олейников В.А.): У нас задержка некая произошла с этой защитой в связи с тем, что «ковидская» эта ситуация. Так. В диссертационный совет поступили два отзыва на автореферат Капустина Дмитрия Валериевича на эту работу. Оба отзыва положительные. Ну, отмечается, что важнейшая задача, решенная в диссертации, состоит в разработке альтернативной и принципиально новой схемы одностадийного выделения нуклеиновых кислот из проб, и диссертанту впервые удалось в качестве объекта исследования объединить различные по способу получения и по химической структуре полимеры, такие как фторполимеры и полианилины. Отзыв полностью положительный, хотя здесь указывается некий недостаток. По тексту и содержанию автореферата имеются некоторые не принципиальные замечания. В автореферате не вполне верно употреблен термин «полиальгинатные частицы», поскольку альгинаты сами по себе являются полимерами. Кроме того, из текста не ясно, в результате применения какого из компонентов биосепарирующего элемента – анилинсодержащего сорбента или альгинатных частиц - удалось достичь количественного удерживания фракций гуминовых веществ. Ну, а дальше – диссертация полностью соответствует... а подписал Георгий Васильевич Лисичкин - доктор химических наук, зав. лабораторией Химии поверхностей, хим. фак МГУ – Московский университет. Отзыв второй. Полностью положительный. Отмечается, опять же принципиально новая схема выделения одностадийная, отмечается многоплановость работы, и это определяет то, что две специальности. Я смотрю, что достаточно он такой объемный – этот отзыв. Недостатков нет. А подписал Солонин Александр Сергеевич – руководитель лаборатории Молекулярной микробиологии – это Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Скрябина. Ну, и соответственно, вот, подписал главный научный сотрудник, доктор биологических наук Солонин Александр Сергеевич.

Председатель (Иванов В.Т.): Там в первом отзыве было замечание, и если есть желание – можете ответить.

Соискатель (Капустин Д.В.): Вопрос касался выделения ДНК из почвы. Действительно, мною допущена не то что бы ошибка, но скорее неточность. Дело в том, что мы использовали здесь термин «полиальгинатный», поскольку использовали полученные альгинатные частицы, макромолекулы в которых были стабилизированы ионами кальция. Т. е. они сами по себе полимерные, их нельзя назвать «сшитыми», но, тем не менее, это

некие полимерные комплексы. Хотя я согласен, что правильно писать – альгинатные микросферы. Второй вопрос – по поводу опечаток – я уже говорил.

Председатель (Иванов В.Т.): Все, принято. У нас есть все основания перейти к заслушиванию отзывов официальных оппонентов. Сергей Викторович Костров не может присутствовать – он отсутствует по болезни. Поэтому – Александр Анатольевич Ярославов – член-корреспондент, химфак МГУ.

Ярославов Александр Анатольевич: *(излагает отзыв, отзыв положительный)*. Уважаемый председатель, уважаемые члены диссертационного совета, уважаемые гости. Прежде всего, я хотел бы поблагодарить вас за то, что вы пригласили меня рецензировать эту работу. Я с удовольствием эту работу проделал – имею в виду – подготовил рецензию. И сразу хочу сказать, чтобы не отвлекаться на детали. Сегодня была такая плотная дискуссия, мы очень много узнали сверх того, что было в диссертации и в докладе, поэтому – детали... Я хочу сразу перейти к делу. Вот чем эта работа интересна с моей точки зрения – ну, тоже сегодня говорили – тем, что она многоплановая. Обычно диссертация, и докторская в том числе – она представляется в виде или фундаментальной работы, либо в виде работы практического назначения. Если эта работа фундаментальная, то для того, чтобы несколько оживить текст, авторы вставляют туда рассуждения на тему разработки, практического внедрения, потенциальных успехов и т. д. Как правило, это носит такой декоративный характер. А если речь идет о практическом результате - о практическом внедрении, то часто бывает так, что фундаментальная часть просто провисает. И все превращается в итоге в таблицу, внутри которой можно найти любую точку, которая интересна человеку, который задумал употребить, например, то, что описано в этой диссертации.

Та работа, о которой мы сегодня говорим – она представляет интерес именно с точки зрения своего сюжета. То есть с одной стороны, эта работа, безусловно, фундаментальна, об этом сегодня много говорили. С другой стороны, усилия автора воплотились в том, что ему удалось получить некие абсолютно реально действующие сорбенты, и не просто их предложить в терминах разработки, а довести это дело, что называется, до практического ума, свидетельством чему является обширный список патентов, которые были сделаны на основании этой работы. Мало того, это не просто патенты, т. е. не просто листы бумаги, на которых просто что-то написано, а большая часть того, что описано там, реализовано в виде сорбентов, причем сорбентов самого разного назначения и самого разного вида.

Теперь, о чем же эта работа. Казалось бы, идея, лежащая в основе этой работы, удивительно простая. Вот некая задача выделения из сложной системы нуклеиновых

кислот. Длинная молекула, содержащая большое количество отрицательных зарядов. Вот как бы ее достать из этой смеси таким образом, чтобы затраченные усилия были минимальны? Вот здесь автору помогает очень большой раздел – это глава первая диссертации, которая, по сути, представляет собой литобзор, и из этого литобзора следует со всей очевидностью – что надо делать, а что делать, наверное, уже не надо, потому что это было сделано. Вот не надо идти по тому пути, по которому шли авторы предыдущих работ, скажем так. Когда получались классические сорбенты. Сорбенты были, как правило, иониты. На эти иониты можно было легко посадить вот эту длинную цепочку ДНК, а потом аккуратно смыть ее и получить вот то, что будете потом анализировать. Это вот то, что называется «позитивная селекция». Этот путь оказался – он не чтобы, плохой, не то, чтобы неправильный. Абсолютно логичная схема. Но в последнее время она перестала удовлетворять людей, которые работают с ПЦР-анализом. Не удовлетворяет она потому, что она медленная. Она сохранила за собой все достоинства, которые были ей присущи, т. е. это эффективность выделения, чистота, которая достигается, очень высокая, но метод медленный. Поэтому он перестал нравиться и работа теперь ведется в том направлении, чтобы сохранить все достоинства, которые были, плюс сильно ускорить этот процесс. А как его ускорить? Классическая схема – она многостадийна. Вначале вы приготовили смесь, потом пропустили через колонку. Что-то село. Потом вы это аккуратно смываете, а потом, когда смыли – еще раз надо посмотреть на то, что вы смыли. Может быть, придется делить еще раз. Так вот, идея автора была удивительно простой. Заключалась она в следующем. Вот надо сделать сорбент таким образом, чтобы никакая ДНК на него не налипала. А какой может быть такой сорбент? Гидрофобный, у которого нет никаких зарядов. И вот здесь усилия, собственно, были в двух направлениях реализованы. Первое – это гидрофобный полимер – фторполимеры. Там все понятно. Никаких зарядов нет, действительно можно это все описывать в терминах гидрофобной поверхности. А второй случай, вообще говоря, более сложный. Вот сегодня об этом тоже много говорили. Речь идет о полианилине. Понимаете, с полианилином все, конечно, не так просто. Здесь об этом говорили уже, что на самом-то деле полианилин конечно гидрофобен в определенных условиях, но тем не менее, есть масса работ на эту тему: заряд-то он несет положительный. Этот положительный заряд может играть существенную роль в адсорбции ДНК. Следовательно, мы как бы возвращаемся к первоначальной двухстадийной схеме. Хорошо ли это? Но, тем не менее, автор показывает, что, несмотря на все эти, казалось бы, формальные трудности, одностадийную схему выделения ему удается реализовать. На что бы я хотел обратить внимание в этом случае. На то, что эта фундаментальная

часть диссертации – она, безусловно, очень большая. Вообще говоря, книжка эта – 400 страниц. Понимаете, вообще говоря, осилить ее – это составляет такой изрядный труд. И если ее оснащать дополнительными деталями, то будет там, не знаю, двухтомник, потом, может быть, многотомник. Т. е. автор справедливо решил, что надо где-то остановиться. Остановиться надо где? Вот в тот момент, когда он получил работающий сорбент. Да, про этот сорбент мы много не знаем. Например, остались вопросы, которые, вообще говоря, важны не только для этой работы. Вот, например, вопрос формирования поверхностного слоя. Он интересен не только для создания сорбентов. Вот, скажем, сейчас, в связи с коронавирусом, о котором сегодня тоже много говорили, возникает проблема получения биоцидных поверхностей. Идея заключается в том, чтобы разработать некую рецептуру, которую вы наносите на любую поверхность, образуется пленка и пленка убивает микроорганизмы, которые туда сели. Возникает вопрос: а какой толщины должна быть эта пленка? Вот ровно такой же вопрос можно задать автору. Действительно, а какой толщины должен быть этот слой, который будет не «ловить» ДНК и будет «ловить» все остальное? Это что должно быть – монослой, слой из двух там, бислой, полислой и т. д.? Ответа на этот вопрос в диссертации нет. Это можно, конечно, поставить не то, чтобы в вину автору, а отметить это как некий недостаток. Но понимаете, недостаток этот действительно есть, но он скорее привлекает к себе внимание и заставляет думать о том, как можно с помощью тех приемов, которые описаны в диссертации, такие поверхности создавать. И может быть, распространить эти выводы на другие системы. Так что мне кажется, что это ни в коей мере не недостаток работы, а скорее ситуация, которая будоражит воображение и позволят это дело перенести на другие системы. Вообще наиболее разработанной с точки зрения фундаментальности, на мой взгляд, является первая часть, которая касается синтеза. Вот там практически нет вопросов. Есть момеры, есть полимеры, которые были получены. Они прекрасно охарактеризованы. Вот дальше автор получает сорбенты, собственно говоря. И сорбент можно было бы получить простым способом. Превратить полимер в шарик. Сегодня тоже об этом говорили. Да, наверное, можно было бы это сделать. Но такой сорбент потеряет многие интересные свойства. Не просто интересные, а нужные. Например, такой сорбент из тех полимеров, о которых идет речь – будет хрупким. В нем будет нельзя сделать поры, т. е. емкость его уменьшится ну и он будет не столь долгоживущ, как хотелось бы. Поэтому возникает образ носителя, и модификации поверхности, ну и т. д. Вот вопросы, которые остались без ответа пока во второй части о формировании поверхностей, они, естественно, переносятся на третью часть, когда речь идет собственно об абсорбции. Здесь тоже не все так просто, потому как ДНК, например, и

тот же самый полианилин. Почему она не садится на полианилин? Ответа на этот вопрос пока нет, но практический результат достигнут. Еще более сложный вопрос с белками и теми сложными смесями, которые тоже упоминались и которые тоже пропускаются через колонку. Все это добро должно каким-то образом взаимодействовать с колонкой. Гидрофобный белок – почему бы ему не сесть на гидрофобную матрицу? А потом как его смывать? Водным раствором? Раствором соли или манипулируя рН. Но гидрофобные взаимодействия – честно говоря - нужно постараться, чтобы таким нехитрым способом разрушить. Но, тем не менее, результат получен. Получены сорбенты, они работают, они апробированы во многих учреждениях, получены прекрасные результаты, есть патенты. Есть даже удачные попытки использования этого подхода на фирмах, расположенных не только на территории Российской Федерации, но и за границей. Так что работа действительно сбалансирована. Понимаете, внутри этой работы – несколько, по сути дела, работ. Потому что надо «что-то» синтезировать, потом это «что-то» надо посадить на поверхность таким образом, чтобы это оттуда не слетело. А потом еще заставить этот «что-то» работать таким образом, чтобы обеспечить необходимую селективность. Понимаете – целый набор синтетических, физико-химических задач, нужно было исследовать свойства поверхности и т. д. Факт, что автор так или иначе коснулся этих вопросов и получил ответы на интересующие его вопросы, не на все, а на интересующие его вопросы – это, конечно, большая его заслуга. Ну и финал этой работы – это создание большого количества разного рода сорбентов, которые показали свою действенность. Что касается замечаний к этой работе. Все, о чем говорилось, я совершенно со всем этим согласен. Но свои комментарии я сейчас выскажу. Что касается замечаний, которые не то что бросаются в глаза, но выглядят довольно естественно. У меня их три. Два из них уже сегодня упоминались. Первое - это цена. Коль скоро разговор ведется все-таки об использовании этих сорбентов в качестве некоторого продукта, то возникает резонный вопрос. А цена-то какая всего этого изделия? Насколько это конкурентоспособно? Кстати, ответ, который мы сегодня получили в дискуссии, меня удивил. Понимаете, если сорбент, уже имеющийся на рынке - это 100 – 180 евро за пробу, а то, что вы предлагаете – 14-16? То куда смотрят все эти люди, которые используют эти сорбенты - это вопрос, на который у меня нет ответа. Выигрыш в 10 раз – это колоссальный успех. Что-то они просмотрели в вашей работе. Я думаю, к ним надо снова обратиться и указать на их невнимательность. Второе замечание, которое у меня есть, оно касается (тоже об этом сегодня упоминали). Это относительно эффективности выделения ДНК из образцов почвы. Такое впечатление складывается, может из-за того, что автор устал. Объем диссертации очень большой. Некоторые разделы написаны немножечко наспех. Ну, это

тоже можно понять. Ответ на этот вопрос мы тоже сегодня получили. Ну и последнее – это собственно говоря, чувствительность методов, о которых идет речь. Эти цифры неплохо было бы привести. Не просто сравнивать то, что уже готово в терминах цены, там, долговременности действия и т. д., а просто чувствительность. Если будете спускаться предельно низко по концентрации ДНК, белков там, вот где вы потеряете возможность наблюдать за тем, что находится внутри? Но это все такие технические детали, которые, конечно, будут устранены, потому что работы, судя по всему, будут продолжаться. Но, в конце концов, надо же внедрить то, что вы сделали. Ну а если она будет продолжаться, то и ответ на этот вопрос тоже будет получен. Вот, собственно, все у меня. Спасибо большое.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Ну, Дмитрий Валерьевич, наверное, у вас есть желание на те замечания, которые прозвучали, ответить, хотя бы кратко.

Соискатель (Капустин Д.В.): Спасибо, Александр Анатольевич. Ну, собственно, вопрос несколько дублирует ранее задаваемые. Что касается себестоимости и цены. Я уже демонстрировал эту картинку недавно. Сейчас прозвучало, что себестоимость действительно достаточно низкая. Почему сложно быстро внедрить? Ну, во-первых, внедрение любое, особенно таких изделий, требует на первой стадии опытного производства и множества разных испытаний, разрешений и пр. Но в основном все-таки большинство компаний, которые этим занимаются, они привыкли как раз к использованию методик, основанных на «позитивной селекции», и для того, чтобы перейти на предлагаемые нами материалы, по сути, нужно полностью перепрофилировать все производство. Потому что в каждой такой компании есть один или несколько цехов по производству реагентов, наборов, каких-то устройств и пр. Это вызывает определенные трудности. Двери перед нами не закрыты, я думаю, что мы будем решать этот вопрос, и продолжаем его решать, общаемся. Сейчас в связи с коронавирусной пандемией у нас несколько замедлились эти контакты. Мы контактируем, например, с компанией ДНК-Технология по проблеме выделения РНК-содержащих вирусов. Там свой нюанс есть. Все вроде бы работает, но проблема с составом транспортной среды, а они не хотят менять состав транспортной среды, потому что это невыгодно и неудобно. Вот из таких нюансов маленьких и складывается вся ситуация – почему не взять и не использовать и не продавать в больших объемах. На второй вопрос я тоже, по-моему, уже ответил. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Предоставляем слово Владимиру Глебовичу Лунину. Всероссийский институт сельскохозяйственной биотехнологии.

Лунин Владимир Глебович: *(излагает отзыв, отзыв положительный)*. Уважаемый председатель, уважаемые члены комиссии. Позвольте вам представить отзыв на диссертацию Капустина Дмитрия Валерьевича. Я думаю, кто ставил ПЦР, тот всегда испытывал когнитивный диссонанс между высокотехнологичным и изящным методом и рутинной выделением, которая всегда мучительна, сложна, противна. И фактически разрешению этого когнитивного диссонанса и посвящена диссертационная работа Дмитрия Валерьевича. Так, чтобы сделать такой метод, чтобы он соответствовал нашим национальным идеям и традициям: чтобы все было «по щучьему велению, по моему хотению» в одну стадию - быстренько, замечательно и на высоком технологическом уровне в соответствии с технологичным уровнем полимеразой цепной реакции. В общем, замечательно предложена сама схема выделения. Понятно, что все предыдущие методы основаны на «позитивной селекции», на сорбционном методе, который имеет свои преимущества. У меня будет по этому поводу вопрос. А автором предложен принципиально другой метод. В этом как раз изюминка и смысл – об этом все говорили – о «негативной селекции», чтобы все проскакивало, чтобы все связывалось кроме полимеров ДНК и РНК – чтобы они проскакивали в одну стадию, выделялись чистыми и свободными от примесей. Поэтому, соответственно, актуальность и новизна данной диссертации остаются вне сомнений, вне обсуждения. Диссертация построена по традиционному плану: литобзор полон, включает всю историю методов, которые использовались для выделения нуклеиновых кислот, из которого следует вполне логичная постановка вопроса о создании принципиально нового метода, который соответствовал бы принципиально новым параметрам и характеристикам. Практическая часть состоит из четырех частей. Соответственно, в первых трех частях автор описывает создание полимерных сорбентов, изучение их характеристик емкостных и прочих других. И в пятой главе приходит, собственно говоря, к основной цели и задаче как бы практической своей диссертации – к попыткам выделения ДНК с помощью разработанных сорбентов из разных источников. Здесь, мне кажется, представляется наиболее важная часть диссертации и именно ценность диссертации в том, что любой автор, который пытается создать что-либо ценное, сталкивается с так называемой «долиной смерти», которую не всякому удастся преодолеть, а именно - получить какой-то первоначально значимый практический результат – это одна ценность, другая ценность – преодолеть эту «долину» смерти. А именно – реализовать свой первоначально полученный практический результат на различных, соответственно, образцах. И соискателю это все удастся, поскольку образцы, которые исследованы, многочисленны. Это и разные источники, из которых выделялись нуклеиновые кислоты,

медицинские пробы, и пищевые пробы, и почвенные пробы, и во всех автору сопутствовала удача. Результаты были хорошие, сравнимые с традиционными образцами и были пригодны для ПЦР-анализа. Что можно в заключении сказать – что диссертация Дмитрия Валерьевича Капустина, безусловно, представляет собой серьезный законченный научный труд. Представленные экспериментальные материалы получены автором в сотрудничестве со множеством лабораторий и опубликованы в рейтинговых журналах. Достоверность предоставляемых результатов несомненна. Положения, выведенные в диссертации, обоснованы и подтверждены обширными графиками и таблицами. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, которое отражено в многочисленных публикациях. Среди замечаний, о которых здесь говорили, вот предыдущий оппонент меня опередил. Это, конечно, стоимостный [вопрос], т. е. себестоимость. Ответы получены. Из таких вопросов, которые меня интересовали - это вопрос о работе с сильно разбавленными образцами и как бы вопрос такой: не имеют ли сорбционные методы преимущество все-таки перед разрабатываемым методом «негативной селекции», поскольку сорбционные методы все-таки при работе с разбавленными препаратами позволяют сконцентрировать из большого объема нуклеиновые кислоты и, как мне кажется, в некоторых случаях, когда концентрация очень низкая в исследуемых образцах, могут иметь преимущество. Ну, конечно, хотелось бы, поскольку работа практическая, чтобы все-таки были (ну как бы пожелания назад бессмысленны), чтобы были проведены сравнения с какими-то стандартными наборами и с ними проводились сравнения, чего часто нет. Но все замечания носят, скорее, рекомендательный характер, несколько не умаляют научной ценности диссертации Дмитрия Валерьевича Капустина и не снижают общего положительного впечатления от работы. Поэтому, наверное, надо зачесть эту фразу. Таким образом, диссертация Дмитрия Валерьевича является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных диссертантом исследований решена научная проблема, имеющая важное хозяйственное значение для развития бионанотехнологий, в частности, молекулярной диагностики, в которых применяются полимерсодержащие композиты, а также изложены новые научно обоснованные технологические решения по созданию таких композитов и по методологии их использования. По своей актуальности, новизне, уровню изложения, теоретическому и практическому значению диссертация Капустина Дмитрия Валерьевича полностью соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор Капустин Дмитрий Валерьевич, несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора химических наук по

специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 02.00.06 - высокомолекулярные соединения. Спасибо за внимание.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Дмитрий Валерьевич, будете сравнивать «негативную» и «положительную» селекцию?

Соискатель (Капустин Д.В.): Наверное, не будем сравнивать. Я попробую ответить - к сожалению, нет иллюстрации - на первый вопрос – о выделении минорных нуклеиновых кислот. Мы сталкивались с этой проблемой и единожды нам удалось ее решить следующим способом. Нам предстояло выделять ДНК из спор бактерий. Бактериальные культуры обрабатывались - проводился термический лизис - и удалось выделить ДНК, которая содержалась там в очень незначительных количествах, - благодаря введению этапа концентрирования. Дело в том, что мы ухитрились провести ее в единой конструкции. Нижний слой составлял слой полимера, демонстрирующего «негативную селекцию» в отношении ДНК, а верхний концентрирующий слой представлял собой определенное количество «биогеля» – это полиакриламидные частички. Причем, помещались они туда в сухом виде. В результате нанесения лизата происходило быстрое набухание этих частиц и большая часть низкомолекулярных, дело даже не в низкомолекулярных [соединениях, а в том, что] большая часть жидкости входила в поры этих частиц. Соответственно, оставалось достаточное количество жидкости, чтобы при центрифугировании выходил элюат с уже сконцентрированной нуклеиновой кислотой. Вот такой вариант мы реализовали, кстати, как раз в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов имени Скрябина в Пущино. Простите, а второй вопрос? Уже был дан ответ. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): И у нас еще третий отзыв. Сегодня Костров Сергей Викторович не смог присутствовать по болезни, но с его отзывом сейчас мы ознакомимся.

Ученый секретарь (Олейников В.А.): Да, сейчас мы ознакомимся с ним. *(Излагает отзыв оппонента Кострова С.В., отзыв положительный)*. Мы уже слышали в разных вариантах. Ну, вот это отзыв на диссертацию Капустина Дмитрия Валерьевича. Опять же, подчеркивается актуальность направления. Пишется, что «...Одно из актуальных направлений современной бионанотехнологии посвящено разработке эффективных способов пробоподготовки для повышения чувствительности методов молекулярной диагностики, в частности, за счет повышения выхода высокоочищенных препаратов биополимеров (прежде всего, нуклеиновых кислот) в результате их выделения из биологических образцов сложного состава...». Ну, как бы подчеркивается направленность, актуальность. Подчеркивается здесь далее новизна. Пишется, что

«...Разработанный диссертантом подход является новым и отчасти неожиданным. В целом, диссертационная работа является междисциплинарным исследованием, посвящена разработке основных концепций получения и применения полимерсодержащих композитов, демонстрирующих эффект «негативной селекции» в отношении нуклеиновых кислот для решения биотехнологических и биоаналитических задач...». Однако не только этим определяется актуальность и новизна работы Капустина. Диссертанту удалось объединить в качестве объекта исследования такие различные по химической природе вещества, как фторсодержащие полимеры, полиарамида и полианилины. Автором разработан целый ряд технологических приемов, позволяющих иммобилизовать нанотолщинные полимерные покрытия на твердых объемно-пористых и непористых носителях различной природы, например, на поверхности кремнеземов, синтетических мембран, мультикапиллярных стеклянных систем, кремниевых пластин и т. д. Далее, здесь приемы описаны достаточно подробно. Я это опущу, поскольку мы сегодня это слышали уже. У диссертации традиционная схема построения. 439 ссылок. Ну, вот здесь важно. Таким образом, диссертантом обнаружен и исследован эффект низкой сорбционной активности ряда полимеров, таких как фторполимеры, полианилины и полиарамида, по отношению к нуклеиновым кислотам – т.е. эффект «негативной селекции». Далее пишется, что все это хорошо подтверждено, очень достоверно, и с помощью разработанных методов получена серия композиционных сорбентов, отличающихся как химическим строением полимерных модификаторов, так и природой носителя; разработана линейка биосепарирующих элементов различной конструкции, содержащих полученные сорбенты. И множество примеров, на которых продемонстрирована высокая эффективность и универсальность применения биосепарирующих элементов, содержащих разработанные сорбенты. Резюмируя, можно утверждать, что диссертационная работа, безусловно, является серьезным завершённым научным трудом, выполненном на высочайшем экспериментальном и теоретическом уровне. Работа описывает громадный экспериментальный материал, полученный автором. И вот недостатки. Принципиальных замечаний по представленной работе нет. Однако есть несколько вопросов, которые требуют пояснения:

1. Возможно, было бы целесообразным изменить порядок изложения материала и в первую очередь представить разработанные методы синтеза композитов, а затем главу, посвященную исследованию сорбционных свойств полученных материалов.
2. В подразделе, относящемся к выделению ДНК из образцов почв, не приведено сравнение с существующими методиками по выделению нуклеиновых кислот из почв по эффективности выделения (выход нуклеиновой кислоты, затрачиваемое время, чистота).

3. В заключении диссертации было бы уместным привести хотя бы предварительную оценку экономического эффекта от возможного внедрения разработанных композитов (в частности, сравнить себестоимость производства наборов, включающих разработанные мини-колонки, с существующими на рынке диагностическими наборами).

Однако замечания несколько не умаляют... Диссертация по своей актуальности, новизне, уровню... соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а сам Капустин Дмитрий Валерьевич заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора химических наук по специальностям... Подписано: официальный оппонент, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский Институт» Сергей Викторович Костров.

Председатель (Иванов В.Т.): Дмитрий Валерьевич, завершающее защитное выступление.

Соискатель (Капустин Д.В.): Владимир Александрович, прошу прощения. Там первый вопрос был касательно... переставить местами. Дело в том, что я начинал писать работу, как раз описывая в начале методы синтеза, а затем исследование сорбционных свойств. И мне показалось, что гораздо логичнее поменять местами эти части, поскольку вначале нужно было доказать, что эти материалы представляют интерес, а затем внимательно заниматься разработкой способов их получения. Вот, что касается первого вопроса. Хотя вначале можно описывать и в будущих докладах вначале рассказывать о способах получения, а потом об их сорбционных свойствах. И второй вопрос касался [выделения] ДНК из почвы. Я в принципе уже отвечал на этот вопрос. Мы сейчас подготовили рукопись, которую мы будем посылать в ближайшие две недели – рукопись, посвященную выделению ДНК из почв. И там уже используются не модели, которые были описаны в диссертации, а конкретные коммерческие наборы и, соответственно, наш протокол. Так что этот недочет будет исправлен в самое ближайшее время. Ну, а на третий вопрос я уже ответил. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Мы сейчас должны перейти к общей дискуссии. Может быть, есть какие-то вещи, которые мы еще не дообсудили по поводу голосования? Хотелось бы, чтобы мы услышали какие-то рекомендации. Кто хотел бы поучаствовать в этой дискуссии? Сразу несколько людей. Николай Владимирович. Я вас первым увидел, а потом вам дам слово.

Бовин Николай Владимирович: Я сразу скажу, что я призываю голосовать «за» эту диссертацию. Она, действительно, очень хороша – эта работа. И выход очень существенный, и сделана она классно. А выступление мое спровоцировано

выступлением, точнее, серией вопросов Ильи Викторовича Ямпольского по поводу, если кратко сформулировать, «а деньги где? Т. е. где экономический эффект от этой прикладной работы. Дело в том, что эта работа делалась в определенных социально-экономических условиях и на определенной географической территории. Мы с вами все или многие, во всяком случае, имеем родовую травму – мы приходим из Советского Союза и ничего с этим не сделать. И те принципы, которые были нормальны для Советского Союза, они, конечно, переходят и в наше существование и от них еще долго придется избавляться. А может быть и надо избавляться в какой-то степени. Ощущение, что автор диссертации – это некий такой сеятель. Вот он сделал очень много хорошего и раздает всем вокруг – пользуйтесь. Вот я вам это сделал, берите и пользуйтесь. Если бы это было в какой-то другой инфраструктуре, если бы это было, скажем, в Калифорнии, то я думаю два-три стартапа были бы уже созданы на основе этих разработок и приносили бы прибыль уже сейчас и немалую. Но и человек был воспитан, который все это разрабатывал, не так, как это делается в Калифорнии, и условий для того, чтобы создавать эти стартапы, чтобы все это подхватывалось, тоже на самом деле нет. То есть они в какой-то степени есть, но они не достаточны для адекватного применения этих научных знаний. Наверное, это можно было бы через ЦТИ использовать. Наверное, если бы у Капустина были способности к бизнесу, он бы уже создал сам эти стартапы. Он сделал по-другому. И он рассеивает свои результаты. И, слава Богу. Наверное, нужно и то и другое. Поэтому я не вижу в той ситуации, которую мы сейчас наблюдаем и которую несколько критически Илья Викторович, судя по его вопросам, рассматривал, я считаю, [что эта ситуация] вполне нормальна, приемлема и имеет право на существование. Еще раз говорю, что я призываю голосовать всех «за» эту диссертацию не только, как за диссертацию с научными данными, но и как за прикладную работу.

Председатель (Иванов В.Т.): Вообще-то, «долина смерти» существует и в Калифорнии тоже. Поэтому тут тем более ничего удивительно нет. Я с вами согласен. Сначала ваш сосед, а потом я вам дам слово.

Межуев Ярослав Олегович: За время доклада и обсуждения этой работы мое мнение о ней претерпело значительную эволюцию. Вначале мне казалось, что работа вполне достойная, выполненная на высоком уровне, но несколько пестрая. Действительно, за рамками исследования большей частью осталось рассмотрение механизмов. Но боюсь, что здесь их так много и они столь разнообразны, что в каждом конкретном случае действительно потребовалась бы громадная работа. Но главная цель и главное достижение диссертанта состоит в том, что он разработал весьма универсальный подход, который позволяет, действительно, отделять значительное количество белка самой

разнообразной структуры, тем самым пропуская нуклеиновые кислоты в свободном состоянии. Когда я задавал вопрос, я спрашивал про степень протонирования не случайно. Разумеется, следующий вопрос должен был бы быть: как это так? Заряд нуклеиновых кислот - отрицательный, цепь заряжена положительно. Вроде как да – электростатическое связывание. Но этот вопрос я решил не задавать вот почему, потому что мне стало понятно, какой принцип этого механизма. А судя по всему, механизм отделения почти всех белков или всех белков связан с тем, что почти всегда при том разнообразии аминокислот и уже тем более последовательностей их сочленения мы найдем фрагмент внутри белковой молекулы или ряд фрагментов, которые будут давать большую константу связывания, чем достаточно однотипные по своей архитектонике фрагменты молекулы ДНК. А далее сработает кооперативный эффект, далее соседние звенья будут ложиться как застёжка. Но дело в том, что признавая такой механизм в качестве возможного, мы должны будем в каждом конкретном случае найти такие фрагменты. Это, действительно, дело не простое и вероятно, это предстоит исследовать в дальнейшем. Поэтому ценность этой работы не только в том, что она, безусловно, практически оправдана вне зависимости, так сказать, от финансовой составляющей. Но главный фундаментальный результат этой работы состоит в том, что она ставит последующие интересные задачи, которые, я думаю, будут решены и это обогатит наше представление о механизмах разделения, о механизмах конкурентной сорбции. И конечно же, в заключении и хотелось бы сказать, что безусловно диссертант-соискатель заслуживает присуждения искомой ученой степени. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо вам. Виталий Павлович.

Зубов Виталий Павлович: Уважаемые коллеги. Сегодня мы заслушали работу, которая не совсем обычная для нашего института для этой аудитории. Но как мне кажется, она не неожиданная. Эту идею – иметь в многопрофильном институте биоорганической химии подразделение, которое будет заниматься материаловедением для физико-химической биологии и биотехнологии, была заложена Юрием Анатольевичем Овчинниковым много лет назад. И вот это – одна из реализаций той идеи, и как мне кажется, она удастся. Я сейчас не буду говорить о работе. Хочу несколько слов сказать о Дмитрие Валерьевиче. Мне кажется, что это очень достойный ученый, труженик науки, который много и эффективно работает, причем работает и руками и головой, руководит группой, руководит работой студентов, т. е. вполне сложившийся полноценный серьезный научный работник и то, что сегодня он представил – мне кажется, позволяет оценить его деятельность по всем направлениям очень положительно, и я бы просил членов диссертационного совета поддержать эту работу. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Сергей Кириакович, у вас было желание или мне показалось?

Завриев Сергей Кириакович: У нас сегодня все очень затянулось, поэтому я буду совершенно короток. Я с позиции человека, который с Дмитрием Валерьевичем давно работает, у нас были даже совместные европейские гранты. Я хочу осветить эту работу и сказать о ней два слова с точки зрения человека, который реально пользовался этими колонками, этим сорбентом для диагностики в том числе фитопатогенов, и я вам хочу сказать, что это действительно с точки зрения использования этого подхода в практике – это замечательно, а то, что касается тех проблем, которые поднимали и Илья Викторович и Николай Владимирович, - конечно, вот эти финансовые какие-то вопросы о том, что это дело надо бы внедрить, раз так все здорово – я с этим тоже полностью согласен, потому что я считаю, что в принципе надо было бы привлечь наше КОУ для этого, действительно посотрудничать с Виталием Павловичем, с Капустиным, чтобы можно было внедрить это и получать от этого какие-то дивиденды. Но тем не менее, работа сделана замечательная, объемная, практическая ценность не вызывает сомнения. Я призываю всех членов ученого совета голосовать «за». Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Да, прошу.

Кузнецов Александр Алексеевич: Я хочу несколько слов сказать от «полимерного», так сказать, крыла нашего совета, образовавшегося сегодня. Мне показалась, что очень интересна работа именно в том плане, что здесь сочетание на грани двух областей, [и] возникает всегда любопытная вещь. И сегодня это не исключение. Главное достоинство работы – это я тут задавал вопрос о выборе, о тех критериях, которыми мы можем руководствоваться для выбора и дальнейшего поиска прогнозирования этих взаимодействий. И я получил на это ответ, что вот эти достаточно разнообразные объекты, которые здесь были совершенно из разных классов – может быть они немножко случайны - но именно это говорит о том, какие у этого метода перспективы. Потому что классов полимеров, особенно функциональных полимеров [много]. Сейчас очень сильно развиваются топологически новые структурные полимеры, когда мы можем на макромолекулу насадить 20, 30 и 50 функциональных групп. И поэтому я считаю, что у этого подхода очень большие перспективы. Именно в этом я вижу главное достоинство работы глазами полимерного синтетика. Мне кажется, что здесь очень интересные открываются области сотрудничества. Я, например, пригласил бы уважаемого диссертанта сделать у нас в Институте синтетических полимерных материалов доклад на эту тему, и я уверен, что были бы интересные предложения для развития вот этой работы

именно в сторону полимерного материаловедения. Здесь есть такие «фишки» и их много довольно. Это все могло бы пригодиться. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Кто еще хочет выступить?

Ученый секретарь (Олейников В.А.): Я тоже хочу сказать два слова. Во-первых, я хочу не согласиться с Ильей Викторовичем, что эта работа не фундаментальная. Почему? Потому что совершенно правильно, что фундаментальная работа должна отвечать на вопрос: а каким образом, какие механизмы, и всегда очень хочется докопаться до элементарных процессов. Всегда очень хочется. Но тут такие есть опасности, что когда докапываешься до элементарных процессов, порой теряешь из виду целое – всю проблему в целом и можно в этом закапаться и работать, работать, работать; и элементарные процессы – как правило, это какие-то простые или модельные системы можно [детально охарактеризовать], - но в данной ситуации у нас здесь и полимерная химия, и самое главное – это поверхностная химия. Химия поверхности - я немного сталкивался с этим – она такая капризная, там столько всяких параметров, и вот то, что Дмитрий сделал, - он сделал замечательную вещь. Он нащупал какой-то путь, и, в общем, он не стал тормозиться и останавливаться на этих элементарных процессах, он этот путь стал развивать. И вот эта методология, понимание общих принципов, понимание каких-то закономерностей общих, дало ему возможность продвинуться и дойти до практического результата, действительно хорошего практического результата. Я думаю, что все-таки эта работа и фундаментальная, и это фактически сформированное новое научное направление, что очень важно для докторской диссертации. И здесь две стороны. А вторая сторона – это практическая ценность. Это работа, которая может вообще в результате привести к тому, что будут созданы какие-то системы и для сельского хозяйства, для животноводства, для быстрого анализа, и для медицины, что было даже уже показано, и для народного хозяйства. Т. е. две стороны докторской диссертации здесь полностью покрыты. Я призываю голосовать «за» и я считаю, что это очень важно.

Председатель (Иванов В.Т.): Еще кто-то хочет выступить? По-видимому, все, что надо было сказать, сказано. Тогда я даю слово диссертанту, которому положено завершать нашу дискуссию.

Соискатель (Капустин Д.В.): Глубокоуважаемые коллеги. Я искренне благодарю всех выступивших за поддержку, за замечательные вопросы, за дискуссию. А также я хотел бы в первую очередь, наверное, поблагодарить своих первых учителей – присутствующую здесь профессора Инессу Александровну Грицкову, которая привила мне любовь к работе на стыке разных дисциплин, а также отсутствующего здесь, уже, к

сожалению, не работающего в нашем институте Виктора Валентиновича Сабурова, и профессора Виталия Павловича Зубова за то, что с первых дней знакомства они позволяли мне формулировать цели и задачи своих исследований, не мешали в принятии этих решений, а напротив, всячески помогали. Также я благодарю всех бывших и нынешних сотрудников нашей лаборатории «Полимеры для биологии», некоторые из которых присутствуют сейчас на заседании, а также сотрудников подразделения Татьяны Владимировны Овчинниковой и подразделения Сергея Кириаковича Завриева – мы много лет вместе сотрудничали, и часть разработок была бы в принципе невозможна без их поддержки и помощи. Я не стану перечислять сотрудников и все организации, которым я искренне признателен за участие в этой работе, поскольку действительно, работа многоплановая и междисциплинарная. Вот на слайде представлен по крайней мере список основных организаций и компаний, с которыми мы сотрудничали и люди, которым я чрезвычайно признателен за их помощь и поддержку. Ну и конечно, я благодарю членов моей семьи за понимание и поддержку, которую они периодически оказывали мне в подготовке работы. Я приглашаю всех желающих в семинарскую 34-го корпуса – погреться, потому что здесь очень холодно. Спасибо!

Председатель (Иванов В.Т.): Спасибо. Нам еще предстоит избрать счетную комиссию. Голосовать и обсудить проект заключения. По поводу счетной комиссии у меня уже есть согласованное предложение. Традиционно мы избираем в составе трех человек комиссию на защите. Мне предлагается огласить следующие фамилии: Завриев, Патрушев и Олейников. Самоотводов быть не должно, кандидатуры согласованы. Может быть, есть какие-то отводы? Тоже нет. Давайте проголосуем за данный состав счетной комиссии. Кто «за»? Кто «против»? Есть ли «воздержавшиеся»? Не вижу. Счетная комиссия избрана. Перед тем, как объявить перерыв на голосование, я бы хотел провести краткое обсуждение проекта заключения, чтобы потом легче было голосовать за данный проект. Есть ли какие-то замечания по поводу проекта, который у всех есть на руках? Николай Владимирович традиционно что-то нашел. Давайте, ждем вас.

Бовин Николай Владимирович: Здесь, конечно, придется существенно поработать над этим документом. Давайте мы заглянем на верх пятой страницы. «...Впервые обнаружен эффект низкой сорбционной активности ряда полимеров по отношению к нуклеиновым кислотам...» и т. д. Когда читаешь этот текст, получается впечатление, что это было неожиданностью для авторов. Вот они что-то проверяли и вдруг раз – это выскочило как неожиданное открытие. На самом же деле это было не так. Вы же целенаправленно эти материалы искали, и нашли, и применили. Поэтому я думаю, что это надо переписать. Слово «обнаружено», именно так, что вы целенаправленно это сделали. Дальше

спускаемся вниз к теоретической значимости исследования [она подтверждена тем...]. Далее идет три абзаца по теоретической значимости, два из которых – это первый и третий – про методы. Это уже не в первый раз тот недостаток, на который я обращаю внимание в такого рода документах. Я думаю, что в теоретической значимости не может быть, не следует говорить о методах, о методических подходах и т. д. Это не теоретическая значимость нисколько. Часть надо, конечно, существенно переписать. И существенно надо переписать, принципиально переписать практическую значимость. Почему? Вот эта практическая значимость написана, как будто бы это не диссертация по биотехнологии, а диссертации по биоорганической химии, где под практической значимостью подразумевается то, что будет интересно коллегам, в основном, по научному сообществу. Здесь мы видим абсолютно четкую, видимую всем практическую пользу того, что сделано, и по разным направлениям, и тот текст, который я читаю здесь в разделе «практическая значимость», совершенно не отражает той практической значимости, которая реально есть в этой диссертации. Т. е. надо кардинально переписывать этот раздел.

Председатель (Иванов В.Т.): Ну, обычно мы делаем так. Мы получаем согласие диссертанта и вас, Николай Владимирович, либо кого угодно, кто предлагает какие-то изменения, что они это совместно доработают, и мы будем голосовать за доработанный вариант проекта заключения. Можем мы сейчас такое решение принять? Вы согласны вместе поработать с диссертантом? И мы доверяем вам, что это будет в соответствие с тем, что мы сейчас говорили.

Бовин Николай Владимирович: Да. Спасибо.

Соискатель (Капустин Д.В.): Да, конечно. Спасибо.

Председатель (Иванов В.Т.): Ну, такой вариант я считаю разумным. Есть ли еще какие-то предложения по поводу проекта заключения? Было довольно много сказано, поэтому, наверное, больше и не надо. В таком случае объявляю перерыв на голосование. Давайте голосовать, и предлагаю не расходиться. Я надеюсь, подсчет будет быстрым, и мы довольно быстро узнаем об итогах подсчета голосов.

(Проходит тайное голосование.)

Председатель (Иванов В.Т.): У меня такое впечатление, что подсчет голосов завершен, и я прошу рассаживаться. Давайте заслушаем итоги нашей с вами работы.

Ученый секретарь (Олейников В.А.): Счетная комиссия отработала и готова огласить результаты. Коллеги, чуть-чуть внимания. Присутствовало на заседании 25 членов совета. Роздано бюллетеней – 25. Оказалось в урне бюллетеней – 25. Результаты по Капустину Дмитрию Валерьевичу: «за» – 23, «против» – 1, недействительный – 1.

Председатель (Иванов В.Т.): Давайте, утвердим то, что мы слышали. Кто «за» то, чтобы утвердить? Кто «против»? Принято единогласно. Ну что, поздравим диссертанта с успешной защитой и давайте проголосуем за проект заключения с тем условием, что он будет доработан. Кто «за» то, чтобы принять проект заключения?

(Проходит голосование по проекту заключения диссертационного совета. Проект заключения принимается единогласно.)

Председатель (Иванов В.Т.): Кто «за»? Кто «против»? Спасибо. До следующих встреч. Спасибо за работу.

Председатель

Диссертационного совета


академик РАН, д.х.н. Иванов В.Т.

Ученый секретарь

Диссертационного совета


д. физ.-мат. н. Олейников В.А.