

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01,**  
созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.  
Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), по диссертации на соискание  
учёной степени кандидата биологических наук

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 25 марта 2020 г. № 8

О присуждении **Лебедеву Дмитрию Сергеевичу**, гражданину Российской  
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Природные и синтетические лиганды никотиновых и ГАМК-А рецепторов» по специальности 03.01.03 – молекулярная биология принята к защите 4 декабря 2019 г., протокол № 23, диссертационным советом Д 002.019.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки, института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН; 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая д. 16\10), действующим на основании Приказа Минобрнауки России №75/нк от 15 февраля 2013 г.

Соискатель Лебедев Дмитрий Сергеевич, 1991 года рождения. В 2013 г. окончил с отличием Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности «Биохимия». С 2013 по 2017 г. обучался в аспирантуре ИБХ РАН. В настоящее время работает в должности научного сотрудника лаборатории лиганд-рецепторных взаимодействий отдела молекулярной нейроиммунной сигнализации ИБХ РАН. Диссертация выполнена в отделе молекулярной нейроиммунной сигнализации ИБХ РАН.

**Научный руководитель** – доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделом молекулярной нейроиммунной сигнализации ИБХ РАН  
Цетлин Виктор Ионович

**Официальные оппоненты:**

**Тихонов Денис Борисович**, д.б.н., чл.-корр. РАН, заведующий лабораторией биофизики синаптических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН);

**Сурин Александр Михайлович**, д.б.н., заведующий лабораторией нейробиологии и



основ развития мозга Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский Центр Здоровья Детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации дали *положительные* отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» в своем *положительном* заключении, подписанном д.б.н. Гудашевой Татьяной Александровной, заведующей Отделом химии лекарственных соединений, и утверждённом директором Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», д.м.н., профессором, членом-корреспондентом РАН Дурневым Андреем Дмитриевичем, указала, что диссертационная работа представляет собой грамотное, полноценное научное исследование, посвящённое актуальным научным проблемам в области изучения лигандов сус-петельных рецепторов; по новизне, научной и практической значимости, достоверности результатов и обоснованности выводов, диссертационная работа Лебедева Дмитрия Сергеевича соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении учёных степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а сам диссертант несомненно, заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология.

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 6 работ объемом 8 печатных листов, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций и индексируемых базами данных Scopus и Web of Science. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах в диссертации отсутствуют. Работы, в которые автор внёс основной или существенный вклад:

1. **Lebedev D.S.**, Kryukova E.V., Ivanov I.A., Egorova N. V., Timofeev N. D., Spirova E. N., Tufanova E. Yu., Kudryavtsev D. S., Kasheverov I. E., Zouridakis M., Katsarava R., Zavrashvili N., Iagorshvili I., Tzartos S. J., Victor I. Tsetlin V. I. Oligoarginine Peptides, a New Family of nAChR Inhibitors. *Molecular Pharmacology*. – 2019 – Т. 96 – №5 – С. 664-673.



2. **Lebedev D. S.**, Ivanov, I. A., Kryukova, E. V., Starkov, V. G., Tsetlin, V. I., Utkin, Y. N. Arginine derivatives of dicarboxylic acids from the parotid gland secretions of common toad *Bufo bufo* - New agonists of ionotropic  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. – 2017 – Т. 474 – №1 – С. 178-182.
3. Utkin Y. N., Kuch U., Kasheverov I. E., **Lebedev D. S.**, Cederlund E., Molles B. E., Jornvall H., Polyak I., Ivanov I. A., Prokopev N.A., Ziganshin R. H., Jornvall H., Alvelius G., Chanhome L., Warrell D. A., Mebs D., Bergman T., Jornvall H. Novel long-chain neurotoxins from *Bungarus candidus* distinguish the two binding sites in muscle-type nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Journal*. – 2019 – Т. 476 – №8 – С. 1285-1302.
4. Kryukova E.V., Egorova N. V., Kudryavtsev D.S., **Lebedev D. S.**, Garifulina A. I., Kasheverov I. E., Utkin Y. N., Tsetlin. From Synthetic Fragments of Endogenous Three-Finger Proteins to Potential Drugs. *Frontiers in Pharmacology*. – 2019 – Т. 10. – С. 748.
5. Kryukova E. V., Ivanov I., **Lebedev D. S.**, Spirova E. N., Egorova N. S., Zouridakis M., Kasheverov I. E., Tzartos S. J., Tsetlin V. I. Orthosteric and/or Allosteric Binding of  $\alpha$ -Conotoxins to Nicotinic Acetylcholine Receptors and Their Models. *Marine drugs*. – 2018 – Т. 16 – №12 – С. 460.
6. Kryukova E. V., Ivanov, I. A., **Lebedev D. S.**, Spirova E. N., Senko D. A., Egorova N. S., Kasheverov I. E., Tsetlin V. I. Polyarginine Peptides As a New Class of Ligands of Nicotinic Acetylcholine Receptors. In *Doklady Biochemistry and Biophysics*. – 2018 – Т. 483 – №1 – С. 313-315.

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы:**

**Отзыв официального оппонента** д.б.н., чл.-корр. РАН, Тихонова Дениса Борисовича. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: 1) в тексте диссертации отсутствует указание, что было сделано автором лично и каков вклад других соавторов в опубликованные работы; 2) литературный обзор дает общее представление о проблематике, но недостаточно сфокусирован на тематике исследований; 3) методы, использованные в работе, заслуживают более развернутого описания; 4) в работе не приведены коэффициенты Хилла, а кооперативность эффектов не обсуждается.

**Отзыв официального оппонента** д.б.н. Сурина Александра Михайловича. Отзыв положительный, содержит следующие комментарии: 1) в списке литературы нет упоминаний публикаций в отечественных изданиях, нет ссылок на обзоры научного руководителя; 2) в литобзоре отсутствует глава о аргинин-содержащих олигопептидах; 3) глава «Материалы и методы» была бы более полезна, если бы содержала ссылки на статьи, откуда позаимствованы экспериментальные методы; 4) в «Материалах и методах» отсутствует описание радиолигандного анализа, если эта работа была проведена коллегами автора, было необходимо указать кем и в каком



подразделении; 5) глава «Материалы и методы» была бы более полноценной, если бы включала указание методов статистической обработки данных; 6) строго говоря, измерения на ридере Hidex Sence не являются имиджингом, так как в ходе них регистрируется уровень флуоресценции, а не изображение клеток; 7) автор пишет, что «...метод кальциевого имиджинга был использован для изучения лиганд-индуцированного ионного тока...», если быть точным, кальциевый имиджинг отражает не ионный ток, а ионный баланс  $Ca^{2+}$  в цитозоле клеток.

**Отзыв ведущей организации.** Отзыв положительный. Содержит следующие замечания: 1) в работе не объясняется, почему для решения схожих задач автором были использованы разные методы электрофизиологии: метод локальной фиксации потенциала («пэтч-кламп») на клетках НЕК293 и метод двухэлектродной фиксации потенциала на ооцитах шпорцевой лягушки; 2) компактный размер некоторых рисунков автореферата затрудняет их чтение, некоторые графики выглядят загромождёнными; 3) в тексте диссертационной работы имеется ряд неточностей и опечаток, не оказывающих существенного влияния на содержание работы.

**Отзыв на автореферат:** к.х.н., зав. лабораторией молекулярных инструментов для нейробиологии ИБХ РАН Василевский А.А. Отзыв положительный. Содержит следующие замечания: 1) в работе встречаются неудачные словосочетания; 2) на рисунке 1А неудачно выбранный масштаб почти не даёт возможности отличить поглощение для фракций 1 и 2 от базовой линии; 3) непонятно, как две различные фракции гель-фильтрации могут давать одинаковую картину поглощения на обращенной фазе; 4) на рисунке 5 пептид 6 не выровнен с другими; 5) опрометчиво утверждается, что размер гуанидиновой группы примерно совпадает с ионным радиусом натрия; 6) не указывается как была получена амплитуда тока в 102,9%.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их научными достижениями в областях молекулярной биологии, связанных с исследованием функционирования белков, в т.ч. рецепторов, а также механизмов ингибирования белковых молекул, которые подтверждены сериями их публикаций в ведущих научных российских и международных журналах. Высокая квалификация, большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень



научной новизны результатов диссертационной работы, её теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает новизну результатов, полученных соискателем. В ходе выполненных соискателем исследований найден широкий спектр новых лигандов, обладающих селективностью в отношении отдельных подтипов никотиновых рецепторов. Теоретическую ценность имеют данные о необычных ингибирующих свойствах нового  $\alpha\delta$ -бунгаротоксина-1 из яда *Bungarus candidus*, резко отличающих его от классического  $\alpha$ -бунгаротоксина.

Определённый интерес для будущих исследований фармакологической направленности имеет демонстрация антагонистических свойств синтетических пептидов, воспроизводящих структуру петли II белков Lynx1 и SLURP1 в отношении никотиновых рецепторов  $\alpha9\alpha10$  и  $\alpha3\beta2$  типа.

Установлено, что олигоаргининовые пептиды и катионные полимеры, известные в качестве средства доставки анионных молекул через плазматическую мембрану, являются антагонистами никотиновых рецепторов. При этом выявлено, что пептиды состава R8 и R16 обладают повышенной селективностью в отношении никотиновых рецепторов  $\alpha9\alpha10$  и мышечного подтипов. На основе анализа экспериментальных данных соискателем предложен механизм ингибирующего действия олигоаргининовых пептидов на никотиновый рецептор. Все эти данные обладают практическим значением для предсказания потенциальных побочных эффектов применение катионных полимеров, а также олигоаргининовых пептидов в клинической практике.

Оценка достоверности результатов исследования подтвердила проведение надлежащих контрольных экспериментов и продемонстрировала воспроизводимость результатов. Результаты экспериментов были получены на сертифицированном оборудовании.



Личный вклад соискателя состоит в планировании и выполнении экспериментов, анализе данных и их представлении. Все результаты, представленные в диссертационной работе получены лично Лебедевым Д.С., за исключением радиолигандного анализа (выполнен с.н.с. лаборатории лиганд-рецепторных взаимодействий Крюковой Е.В.), ЯМР- и масс-спектрологии (выполнена н.с. лаборатории лиганд-рецепторных взаимодействий Ивановым И.А.), синтеза пептидов (выполнен сотрудниками Отдела нейроиммунной сигнализации ИБХ РАН Ивановым И.А., Егоровой Н.С. и Тимофеевым Н. Д.), синтеза катионных полимеров (выполнен н. с. Института химии и молекулярной инженерии Сельскохозяйственного Университета Грузии Заврадашвили Н.) и компьютерного моделирования (выполнено н.с. лаборатории лиганд-рецепторных взаимодействий Кудрявцевым Д.С.). Автор принимал непосредственное участие в написании и подготовке к печати статей по результатам диссертационной работы.

Исходя из вышеизложенного, диссертационный совет заключает, что диссертация Лебедева Д.С. является законченной научно-квалификационной работой, результаты которой важны для развития молекулярно-биологических и медико-биологических исследований. Работа написана автором самостоятельно и содержит новые и актуальные научные результаты. Таким образом, диссертационная работа Лебедева Дмитрия Сергеевича «Природные и синтетические лиганды никотиновых и ГАМК-А рецепторов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 - молекулярная биология, соответствует всем требованиям (в том числе п.9), предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650).

На заседании 25 марта 2020 г. диссертационный совет принял решение присудить Лебедеву Дмитрию Сергеевичу учёную степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 5 доктора наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 22, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель  
диссертационного совета

д.х.н., академик РАН Иванов В.Т.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



д.ф.-м.н. Олейников В.А.

26 марта 2020 г.