



Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук
(ИБХ РАН)

СТЕНОГРАММА
заседания диссертационного совета Д 002.019.01
при ИБХ РАН

14 декабря 2016 года

Защита диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук **Богданова Ивана Владимировича** на тему:

«Новые липид-транспортирующие белки растений семейства *Fabaceae*»

по специальности 02.00.10 - биоорганическая химия

Москва – 2016

СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 14 декабря 2016 года.

Заместитель председателя диссертационного совета
Член-корр. РАН

Липкин В.М.

Ученый секретарь диссертационного совета
Доктор физико-математических наук

Олейников В.А.

Из 30 членов совета присутствует 21 человек, из них докторов по профилю диссертации – 7.

1. Член-корр. РАН	Липкин Валерий Михайлович	(03.01.06)
2. Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
3. Д.х.н.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
4. Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
5. Академик РАН	Богданов Алексей Алексеевич	(03.01.03)
6. Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
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. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
12. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
13. Д.х.н.	Молотковский Юлиан Георгиевич	(02.00.10)
14. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
15. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
16. Академик РАН	Свердлов Евгений Давидович	(03.01.03)
17. Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
18. Д.х.н.	Формановский Андрей Альфредович	(02.00.10)
19. Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
20. Д.х.н.	Шапаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
21. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Следующая защита у нас это Богданов Иван Владимирович, диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 - биоорганическая химия. Официальные оппоненты Северин Евгений Сергеевич – член-корреспондент РАН, доктор химических наук, и Бабаков Алексей Владимирович – доктор биологических наук.

Уч. секретарь, д. ф.-м. н. Олейников В.А.:

Материалы личного дела (*зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайте ВАК вовремя и все необходимые документы в деле есть*).

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Доклад, 20 минут.

Богданов И.В.:

(*Излагает основные положения диссертационной работы.*)

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо. Пожалуйста, у кого есть вопросы? Ни у кого нет?

Уч. секретарь, д. ф.-м. н. Олейников В.А.:

Нет.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Есть. Долгих.

д.б.н. Долгих Д. А.:

Скажите пожалуйста, ваши белки взаимодействуют с иммуноглобулинами E и это является, так сказать, основой механизма вот этого иммунного ответа, да, так сказать, а есть у вас какие-то параметры взаимодействия вот этих белков с иммуноглобулинами этими? Константы или что-то в этом духе. И сравнивали ли вы эти параметры с теми, которые характерны для других аллергенов?

Богданов И.В.:

Параметры связывания мы не устанавливали. Константы диссоциации в случае этих белков, скорее всего, такие же, как для стандартных аллергена и антитела к этому аллергену. Но мы не занимались установлением констант диссоциации.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Так, еще вопросы, пожалуйста. Кто еще? Владимиру Александровичу тогда слово.

Уч. секретарь, д. ф.-м. н. Олейников В.А.:

Так, значит у нас отзыв ведущей организации Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, отзыв положительный и вот, что пишется. (*Зачитывает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается.*). При ознакомлении с диссертацией возникли следующие замечания: термин «аспартильные протеиназы» уже несколько лет заменен на «аспаратные протеиназы», поскольку в активном центре этих ферментов присутствуют две отрицательно заряженные карбоксильные группы остатков аспарагиновой кислоты. В процессе аффинной хроматографии белок связывается с лигандом, а не с носителем, к которому прикреплен лиганд. В связи с этим более правильным будет выражение «иммуноаффинная хроматография на поликлональных антителах, иммобилизованных на активированной бромцианом сефарозе». Отмечается, что данные замечания не снижают общую положительную оценку работы.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Так, Иван Владимирович, пожалуйста.

Богданов И.В.:

Полностью согласен со всеми высказанными в отзыве ведущей организации замечаниями. Те варианты, которые ведущая организация предложила в своем отзыве, являются более правильными.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо. Татьяна Владимировна, охарактеризуйте, пожалуйста, диссертанта.

Д.х.н. Овчинникова Т.В.:

Глубокоуважаемые Валерий Михайлович, глубокоуважаемые члены диссертационного совета, коллеги, у меня сегодня простая и очень приятная обязанность, потому что мне надлежит охарактеризовать диссертанта. И я это могу сделать только в самом положительном ключе. Иван Владимирович пришел в нашу лабораторию в 2010 году в качестве студента, который должен был выполнить дипломную работу. И, в последствии, защитив эту дипломную работу на «отлично», поступил к нам в аспирантуру, которую успешно завершил. И сегодня мы присутствуем на представлении результатов этой диссертационной работы, и сейчас совершенно очевидно, что Иван Владимирович стал зрелым научным сотрудником, специалистом, который владеет широким спектром экспериментальных методов. И он проявил при выполнении этой работы все те качества, которые являются желаемыми и которые, так сказать, его характеризуют как очень хорошего научного сотрудника, в частности, способность к научному анализу, критичное отношение к собственным результатам, он читающий очень сотрудник, много читающий, владеющий хорошо английским языком. Кроме того, он никогда не впал в уныние, латентный период этой работы был достаточно длинным – полтора года эти объекты никак не давались в руки, но, тем не менее, Иван Владимирович не огорчился и настойчиво двигался к тому результату, который сегодня нам представил. Кроме того, помимо научной работы, как и

все сотрудники Учебно-научного центра, Иван Владимирович активно принимает участие в образовательной деятельности: он ведет практикум для студентов, он такой очень строгий, с одной стороны, но доброжелательный преподаватель, который умеет держать нужную дистанцию между собой и студентами, но, повторяю, очень доброжелательный и очень добросовестно относится к своим обязанностям. Он является также руководителем целого ряда магистерских диссертаций. Кроме того, он является победителем трех конкурсов, престижных, я считаю, конкурсов на двух международных конференциях – одна проводилась в нашем институте в 2014 году – это конференция международная по биоорганической химии, биотехнологии и бионанотехнологии, посвященная памяти академика Овчинникова, - он победитель конкурса молодых ученых в этой конференции, также в 2013 году победил на конкурсе в рамках международного Биотехнологического конгресса. И в 2015 году он победил на конкурсе «У.М.Н.И.К.», то есть вот он победитель трех конкурсов и обладатель гранта «У.М.Н.И.К.». Кроме того, он активно принимает участие в работе Совета молодых ученых нашего института: он является членом Совета молодых ученых второго и третьего созыва. Ну и по-человечески я должна сказать, что Иван обладает всеми теми качествами, которые снискали симпатию у всего учебно-научного центра и других сотрудников нашего института, совместно с которыми проводилась эта работа. Он пользуется заслуженным уважением своих коллег, и я бы сказала так – это такой тип аспиранта и человека, которого можно было пожелать каждому научному руководителю. И обычно принято аспиранту благодарить всех коллег, сотрудников, руководителей, соисполнителей, а я бы хотела воспользоваться этим приятным поводом, чтобы поблагодарить Ивана за то отношение к работе, которое мы чувствовали, и за ту огромную работу, которую он проделал, за его трудолюбие, за его человеческие качества и пожелать ему дальнейших успехов.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо. Владимир Александрович, тогда отзывы на автореферат.

Уч. секретарь, д. ф.-м. н. Олейников В.А.:

Да, отзывов поступило даже четыре целых, они все положительные отзывы. *(Зачитывает отзывы, все отзывы положительные, все отзывы без замечаний, отзывы прилагаются.)*

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо, Владимир Александрович. Слово предоставляется официальному оппоненту Северину Евгению Сергеевичу, пожалуйста.

Официальный оппонент чл.-корр. РАН, д.х.н. Северин Е.С.:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается.)

Когда я просмотрел автореферат, я понял, что это очень интересная работа. Она интересна и имеет очень большое практическое значение, поэтому я кратко скажу, значит, в чем суть. Дело в том, что, работая много лет в Министерстве здравоохранения, и имея широкие связи с Институтом иммунологии, где имеется клиника, где все время больные с какими-то аллергическими заболеваниями, и, к сожалению, у нас в России внимание к тому, чтобы разобраться, что такое аллергия, какие белки, какие гены и как лечить, отсутствует полностью. То есть фактически, проблема аллергии не получила разрешения ни с помощью блестящих работ Института иммунологии, ни с помощью каких-то вложений в это заболевание. Примерно 30% людей страдают от аллергии, и никто не изучает механизм действия. Вот тут был вопрос по поводу IgE и так далее – IgE не является объектом, который блестяще знают наши ученые, поэтому обращение к этой теме и изучение липид-транспортирующих белков, мне кажется, является, так сказать, важным, оригинальным и очень интересным исследованием. Значит, я бы хотел сказать еще, чтобы вам была четко ясна моя позиция как оппонента, что это работа очень широкого плана. Ну на первых этапах работы, естественно, было продемонстрировано, собственно говоря, исследование структуры и функции этих белков – липид-транспортирующих белков. Между прочим, надо понимать, что такая схема, хорошо описанная в литературном обзоре, что все эти, так называемые Pathogenesis-Related Proteins, их 17 классов, мы о них не знаем ничего. Я, например, не знал, что 17 классов вот таких вот белков, которые имеют отношение к соответствующим функциям и патогенезу. Патологию нужно изучать, а я думаю,

что изучать все эти 17 классов практически невозможно – они все относятся к разным растениям, и то, что был выбран Иваном Владимировичем этот белок из гороха и проведено от начала и до конца это исследование и на чисто химическом уровне и чисто биологическом уровне, и, самое главное, конечно, то, что было показано нашим иммунологам, я об этом говорил с Институтом иммунологии, где я тоже консультирую, весь молекулярный механизм, как надо работать, если есть аллергия. 30-40% процентов попадают в этот так сказать, орган, который лечит их, они мучаются 2 недели, но никакого, так сказать понимания, какой молекулярный механизм действия этих вот аллергенов, у нас пока нет. Поэтому, я имею возможность сказать как оппонент, что эта работа имеет очень большое практическое значение в будущем: это первый результат, первый, так сказать, шаг в изучении молекулярных механизмов лечения аллергии. Ну, что тут можно сказать еще по поводу этой работы. Значит, то, что был выделен белок, о котором были слайды, был доклад хороший очень, и проведен, в начале это была неполная нуклеотидная последовательность ДНК – кДНК, потом, соответственно, был полностью сделан аминокислотный анализ, потом была полностью установлена структура, функции. Фактически, с одной стороны я чувствовал большое удовольствие, что вот, все-таки, в Институте биоорганической химии осталось все то, что было, и оно получило развитие: как надо работать с белками, как надо исследовать нуклеотидную последовательность, как надо исследовать аминокислотную последовательность, как надо доказывать что, чего, как, и что такое белок и какова его функция биологическая. Это им было очень хорошо продемонстрировано. Но это меня как бы никак не возбудило, ну потому что есть Институт биоорганической химии, и мы все знаем, что в этом институте уже на протяжении многих лет хорошо исследуются не только структуры белков, но и механизм действия этих белков и ферментов. Но потом, Иван Владимирович перешел к следующему объекту, и следующий объект исследования – это было два растения – горох и чечевица. Ну, то, что мы широко используем горох – это известно, но то, что от гороха в Испании все время все страдают аллергией, я узнал от своей дочери, которая часто бывала в Испании, и все время какие-то аллергические заболевания от гороха, который очень любят испанцы. Но у нас гороха мало, поэтому мы страдаем не так широко, как в Испании. Но что касается дальнейших работ Ивана Владимировича, тут надо отметить следующее, что, фактически, патогенезис, он очень хорошо известен: известны 17 классов таких вот белков и групп, которые исследуют. И липид-транспортующие белки являются 14 классом, по определению этого вот фрагмента исследований. Этот 14 класс нас четко заинтересовал, и диссертант показал, как важно использовать, фактически, и вот сейчас очень большое внимание уделяется транспорту. Есть транспорт, чтобы проходить через мембрану, чтобы давать новые лекарства, и вот, липид-транспортующие белки тоже являются, так сказать, классом, которые осуществляют специфический транспорт через мембрану. Это очень важно. Но что бы мне хотелось отметить как оппоненту – итог всей этой работы. Конечно, с одной стороны – это демонстрация того, как надо исследовать белки, как надо доводить до конечного результата это исследование, а с другой стороны, очень четко было показано, что такое аллергия. С другой стороны, не было подробно показано, как появляются IgE и как они вызывают с помощью тучных клеток такие заболевания. Медицинского достижения диссертанту не удалось обеспечить, потому что он не работал с медиками, и не очень любит работать с молекулярными биологами и биоорганиками. Но это – будущее, которое, конечно, его ждет. Я бы хотел еще отметить следующее в работе, что вот этот липид-транспортующий белок, у него полностью изучен. Он впервые, я так понимаю, в Российской Федерации доведен до регистрации. Ведь у нас ведь нет в России большого количества каких-то достижений, которые показывают, что вот этот белок, его молекулярный механизм, является официально признанным аллергеном. Когда заболевание аллергией существует, делают анализы. Делают это не на молекулярном уровне, а на уровне общего исследования, 2 недели: так сказать, человек лежит в больнице, а итога этого результата, я хорошо знаю эту больницу, нет. А здесь подряд четко показано: есть горох, есть там три четко соответствующих белка, и вот этот белок – его белок, липид-транспортующий белок с молекулярным весом, там, по-моему, 5 или 7 кДа – является официально признанным

аллергеном. То есть теперь, мы в Российской Федерации имеем один узаконенный аллерген. Что будет дальше, я не знаю, но он пошел дальше и стал исследовать чечевицу, и в чечевице он предложил еще 2 аллергена, но он их не довел до состояния регистрации. По-видимому, не хватило времени и чего-то там еще, данных. Потому что большой, колоссальный объект Иван представил в качестве доказательств, естественно было его зарегистрировать как аллерген. Чтобы вы представляли, вообще говоря, аллергия она не представлена официальными законными аллергенами, которые требуется анализировать. Когда человека кладут с аллергией, когда он мучается, ему, так сказать, не представляется жестким предмет, какие белки надо в нем обнаружить, в крови больного, а здесь вот есть официально зарегистрированный аллерген. Это большое очень значение имеет. Ну что мне еще хочется сказать? Ну, по поводу вот всех методов. Конечно, здесь сочетание их характерно для Института биоорганической химии. Сочетание, с одной стороны, подобного структурного исследования, а с другой, это было все-таки доведено до состояния, когда надо было четко продемонстрировать, что такое масс-спектрометрия, что такое ЯМР-спектроскопия, и как эти методы должны быть применены для исследования молекулярных свойств белков. К сожалению, я не очень себе хорошо представляю, где в Российской Федерации вот так все объединено для одного белка, что было продемонстрировано в одном белке Иваном Владимировичем. Ну что еще нужно мне сказать, я хочу еще следующее сказать по поводу диссертации: ну вот, значит, я говорил о масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии и так далее, и так далее, но вот интересным моментом является, конечно, что, фактически, горох и чечевица были продемонстрированы как очень мощные аллергены, и было показано на молекулярном уровне, что лучше, вообще говоря, не питаться горохом, если не имеешь соответствующих анализов. И это показала Испания, между прочим. Ну вот я буду говорить 128 страниц, столько-то ссылок, но это, вообще говоря, все было сказано, я хотел еще обратить внимание ваше на то, что вот этот класс липид-транспортирующих белков, это четко было им показано, что они осуществляют специфический транспорт через мембрану. Липид-транспортирующий транспорт – это, так сказать, очень важный момент. Пробраться через мембрану ну можно через рецептор-опосредованный насос или лекарства, но то, что вот эти белки могут осуществлять специфический транспорт через мембрану – это очень важно. Мне понравился обзор не с точки зрения колоссального количества данных, которые приводятся, а с точки зрения практической значимости этой работы. Я знаю, что у вас в Институте биоорганической химии на очень хорошем уровне становятся блестящими представителями, так сказать, различной науки: молекулярной биологии и биоорганической химии, но у вас и с практикой довольно хорошо – вы уделяете большое внимание практике. У вас много есть компаний, которые это довольно хорошо реализуют, но эта практика в этой диссертации она еще пока не была использована. Какая эта практика? Я вам приведу только три примера. Значит, липид-транспортирующие белки – это я просто прочел в диссертации – обладают антимикробной активностью, в частности, они ингибируют штаммы патогенных грибов, которые патогенны для человека. Липид-транспортирующие белки могут разрушать цитоплазматические мембраны фитопатогенных грибов. Фитопатогенные грибы – это отдельная область, я об этом говорить не буду, но она очень важна, и никто не знает, как с ними бороться. Интересно, что липид-транспортирующие белки из капусты – вы знаете, что капуста у нас очень популярна в России – значит, соответственно проявляет высокую активность против вируса гриппа А. Я этого не знал, а вирус гриппа А – это очень плохо, против него у нас ничего нет. Ну вот, липид-транспортирующие белки ингибируют грипп А, а кроме того аденому печени. Так сказать, противоопухолевый эффект. А самое интересное, что рак молочной железы лечат. Я вот не знал, что рак молочной железы, против которой разные там препараты делают, а оказывается, что рак молочной железы блокируют липид-транспортирующие белки. Ну что еще для меня было интересно я хочу вам сказать, чтобы вы поддержали меня, значит, липид-транспортирующие белки участвуют в созревании плодов. То есть когда у нас плоды не успевают созревать – климат плохой у нас и они, так сказать не могут – можно ускорить их созревание, нужно давать им липид-транспортирующие белки. Но потом, и это самый главный результат практический, конечно, его это не интересует и для Института биоорганической

химии он не имеет никакого значения, но принимая во внимание тот интерес, который проявляется у нас в государстве к сельскому хозяйству, практическим результатам, то вот я нашел раздел у диссертанта, где четко было написано следующим образом: «липид-транспортные белки стабилизируют пивную пену». Оказывается, чтобы было хорошее пиво, нужно, чтобы была хорошая пена и чтобы в пиве был определенный процент этой пены, а без этой пены пиво не продается. И вот, контролируя процесс пивоваренной промышленности, создание пивной пены является основным критерием хорошего пива. Меня это поразило, и я думаю, ну что ж, найти где-то в Институте биоорганической химии какое-нибудь подразделение столько денег получило. Ну вы понимаете какое это количество пива, но он на это не обращает внимания, его это не волнует. Ну да, а почему. Конечно, рак молочной железы его тоже не интересует. Пиво его тоже не интересует. Но мы-то с вами привязаны еще к индустрии, получению средств. В принципе, я получил большое удовольствие от этой диссертации. Иван блестяще, конечно, рассуждает, предлагает то, что можно использовать липид-транспортные белки для создания лекарств – это тоже будет в будущем. Ну, в общем, я считаю, что очень хорошая работа, очень хороший доклад. Соответствует всем требованиям, которые предъявляет ВАК к диссертациям. Ну что касается недостатков, есть незначительные недостатки, я их там подчеркнул карандашиком, он будет их исправлять. Я очень хочу обратить ваше внимание – это первый очень важный хороший диссертационный труд, который непосредственно связан с какими-то внедрениями для, вот, сельского хозяйства. Потому, что все, что связано с продуктами – ну я не думаю, что чечевица и горох являются самыми главными продуктами, есть же и другие продукты – рис, рис не созревает у нас, а это можно сразу для риса использовать, и так далее. Поэтому, эта работа заслуживает присуждения искомой степени, диссертант является очень интересным и оригинальным исследователем – это первая работа, насколько я понимаю, в Институте биоорганической химии, которая непосредственно связана с этими растительными объектами, которые представляют большое значение. Но, конечно, надо было начинать не с гороха, а с риса и пшеницы, но это – уже мое замечание критическое, которое не оказывает влияние на эту работу. Я считаю, что диссертант заслуживает присуждения искомой степени, надеюсь, что учёный совет, коллеги, найдут возможность продолжения этих работ и для других аллергенов, все-таки как-то надо с аллергией работать. 30 процентов населения у нас работают таким образом, что выходят из строя на месяц за счет аллергии. 30-40 процентов. Спасибо.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо, Евгений Сергеевич. Насколько я понял, у вас не было серьезных замечаний?

Официальный оппонент чл.-корр. РАН, д.х.н. Северин Е.С.:

Не было.

Официальный оппонент чл.-корр. РАН, д.х.н. Северин Е.С.:

Поэтому, мы предоставляем слово следующему оппоненту, Бабакову Алексею Владимировичу. Пожалуйста.

Официальный оппонент д.б.н. Бабаков А.В.:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается.)

Глубокоуважаемый председатель, глубокоуважаемые члены учёного совета, коллеги. Прежде всего я хочу ответить вот на такой вопрос, который, естественно, встает, когда знакомишься с работами по липид-переносимым белкам. Дело в том, что они достаточно хорошо охарактеризованы, достаточно давно обнаружены, исследованы. И спрашивается, а какой смысл еще выделять новые белки и изучать их свойства? Вот, и дело тут в том, что все это определяется своеобразным механизмом защиты, который существует у растения. Своеобразие заключается в том, что растения против определенных фитопатогенов они не синтезируют конкретный, допустим, антигрибный фитопатоген, который бы блокировал действие и развитие фитопатогена, а защитный механизм заключается в том, что синтезируется много различных белков, не только липид-переносимых, тут и дефензины, и гевеин-подобные пептиды и другие, и ингибирующее действие заключается в коллективном действии. То есть коллектив этих антигрибных белков и пептидов, фактически, и определяет блокирующее действие развития

фитопатогенов. Ну а для того, чтобы было понятно, как работает этот коллективный разум, необходимо и желательно знать, как работает, так сказать, каждый компонент этого коллектива. И поэтому выделение этих белков и установление их, так сказать, функциональных характеристик чрезвычайно важно. Ну и второе, конечно, то, что здесь. Это был первый аспект работы. И второй – это медицинский, который связан с аллергическим действием, с изучением механизма аллергического действия. Теперь, что касается непосредственно, работы. Литературный обзор. Литературный обзор – он, фактически, состоит из двух частей: первая часть – это даются химические характеристики к этим белкам, функциональные характеристики к этим белкам, а вторая часть обзора – уже как раз больше связана с аллергией, с развитием аллергии, с механизмом, как это все развивается, и какое, так сказать, здесь, в развитии аллергических реакций, играют вот эти вот липид-переносящие белки. С моей точки зрения, вообще надо было бы все-таки биологическую часть расширить, а вот касающуюся медицины все-таки немножко сократить. Ну, потому что... хотя, это дело, конечно, вкуса. Если, допустим, в работе ставилась вот такая задача, в большей степени медицинский был акцент, поэтому в обзоре, собственно говоря, так все и проявилось. Замечание относительно обзора у меня только вот такое. Вообще мне нравится больше тогда, когда обзор заканчивается постановкой целей, когда в обзоре ставятся цели, а не только во введении. Ну потому что иначе обзор, как бы, зависает: он получается сам по себе, а диссертация сама по себе. Когда пишется обзор, в обзоре подводят читателя, собственно говоря, к тому, что собирается делать диссертант, а потом уже в заключении, когда уже работа сделана, в заключении пишется что, собственно говоря, сделано и насколько поставленные цели реализованы. Теперь глава «Материалы и методы». Она очень своеобразна. Полторы страницы идет описание приборов, которые использованы в диссертации и три с половиной страницы – описание использованных материалов. Ну, значит, обилие такое и приборов, и расходных материалов вообще указывает, что работа методически очень разнообразна. Это - с одной стороны. А с другой стороны, это говорит также о том, что без серьезного финансового обеспечения эта работа не могла бы быть сделана, что безусловно является заслугой научного центра. Заслуга диссертанта заключается в том, что, когда он такое обилие колоссальных экспериментальных методов сумел аккуратно все их описать, понятно и коротко. И поэтому, в общем, эта часть она с одной стороны не очень обширна, но с другой стороны все понятно и все четко. Теперь, что касается самой работы. Я хочу сказать, что когда обычно идет выделение этих соединений, биологически активных, то, как правило, анализ и поиск этих соединений таким образом, когда фракции анализируются на биологическую активность. А потом уже, когда соединение выделяется, дальше устанавливается молекулярная масса и т.д. Здесь несколько другая логика была. Здесь поиск осуществлялся по молекулярной массе, потому что, молекулярная масса белков известна и уже отбор фракций, когда разрабатывался метод очистки, осуществлялся по молекулярной массе, то есть была отобрана фракция в которой находился белок с нужной молекулярной массой, а вот после этого уже надо было дальше установить аминокислотную последовательность и так далее. То есть логика несколько обратная идет по сравнению с тем, как обычно используется. Теперь, что еще мне понравилось в этой работе, то что, ведь в растениях белков очень много подобного класса, в арабидопсисе их 5, липид-переносящих белков, и я не думаю, что в горохе их намного меньше, а возможно, и больше. Когда диссертант выделил, значит, белок, он установил частичную его аминокислотную последовательность, так, то далее нужно было уже, используя дальше кДНК, кстати было обнаружено там три гена, и нужно было доказать какой из них относится к тому белку, который был выделен. И все это было сделано очень здорово с использованием современных методов химических, и действительно, удалось четко показать, установить, что одна из трех последовательностей, которые были идентифицированы, как раз соответствует тому белку, который был выделен. Вот, теперь, я считаю, что заслугой диссертанта, безусловной, является разработка метода получения белков, стабильно меченых изотопами, потому что это позволило совместно с другой лабораторией этого Института установить структуру и при этом такой нетривиальный факт обнаружить о том, что этот белок, в принципе, имеет две конформации. Причем, насколько я знаю, это впервые установленный факт для этих

белков. Хотя диссертантом показано, что при плавлении не происходит перехода из одной конформации в другую, но с другой стороны – это не исключает того, что при изменении условий, таких как рН и ионная сила может происходить переход от одной конформации в другую. А отсюда может в принципе следовать, что в зависимости от условий может меняться и специфичность действия этого белка. Далее, когда белок был выделен, то следующий шаг – это установление его функциональности. И здесь – это естественно, во-первых, изучение его антимикробной активности, и опять-таки, определение способности переносить липиды и способность разрушать липидные мембраны. И то и другое было очень хорошо сделано, и удивляет насколько в одной работе такое разнообразие методов. Здесь и выделение белка, и установление структуры, и рекомбинантные белки, здесь и структура, здесь и изучение такой вот биологической активности и плюс еще аллергия добавилась сюда. Теперь, я так же считаю, что очень интересный результат – это, во-первых, то, что было показано при сравнении нескольких белков липид-переносящих, что они обладают некоторой специфичностью действия в смысле переноса липидов, потому что отсюда, в общем-то, следует, что они могут обладать некой специфичностью действия и по отношению к фитопатогенам. И очень, кстати, важный результат, который был получен диссертантом, заключается в том, что им было показано, что эти белки способны разрушать фосфолипидные мембраны. Я еще потом скажу о том, почему это очень важно, потому что это, в общем-то, говорит об одном из возможных свойств этих белков – защите растений от фитопатогенов. Я еще хочу сказать, что работа вся – она очень тщательно сделана, то есть там придаться, фактически, не к чему. Каждый раздел, каждая часть работы: химическая часть или биологическая часть или аллергическая – все сделано прекрасно, то есть тут все на высшем уровне. Но тем не менее у меня есть несколько замечаний, которые не по сути работы, а сделаны они для того, чтобы показать, что результаты на самом деле, если их немножко по-другому или описать или добавить, они бы тогда бы выиграли. Ну, первое: в работе не хватает раздела «Заключение», в котором следовало бы более подробно, чем в выводах подвести итоги своей исследовательской работы. Далее: автором показано, что в растении гороха синтезируется предшественник, несущий на своем N-конце сигнальный пептид, однако этот факт нигде не обсуждается, а из него следует, между прочим, локализация этого белка в апопласте, и все рассуждения о механизме действия этого белка должны исходить с учетом этого факта. Третье: когда идет разговор о сродстве белка к разным лигандам, то лучше оперировать константами диссоциации, для чего требуется измерять концентрационные зависимости связывания, а не проводить измерения взаимодействия белок-лиганд при фиксированных концентрациях того и другого. Далее: диссертантом показано, что один белок экспрессируется в зародыше, тогда как два других белка экспрессируются практически во всех исследованных им органах растения, на основании чего можно было бы сделать вывод о том, что ген Ps-LTP1 находится под управлением тканеспецифичного промотора, а гены второй и третьей изоформы – под управлением конститутивных. И далее: основываясь на установленной способности белка Ps-LTP1 разрушать фосфолипидные мембраны, следовало обсудить возможное участие этого белка в защите от вирусов, имеющих оболочку. Эта оболочка представляет собой фосфолипидную мембрану, в которую погружены гликопротеины, определяющую, в конечном счете, проникновение вируса внутрь клетки. Типичный представитель таких вирусов – вирус гриппа. Для растений это могут быть рабдовирусы. И здесь привлекательно то, что механизм защиты абсолютно понятен, то есть если эти белки способны разрушать фосфолипидную мембрану, то при взаимодействии с вирусом такие белки разрушают мембрану вируса, тем самым блокируется его проникновение и механизм защиты становится совершенно очевидным. Сделанные мною замечания, ни в коей мере не влияют на общую благоприятную оценку работы. Еще хочу сказать, что когда я работу прочитал, то у меня было много вопросов и я встретился с диссертантом. Мы все это обсудили и он мне прекрасно на все вопросы ответил. Было понятно, насколько человек профессионально подготовлен, с одной стороны, а с другой стороны было понятно, что эта работа она им сделана, потому что всякие экспериментальные тонкости, о которых я его спрашивал, он прекрасно на них отвечал. И если говорить суммарно об этой работе, и если есть планка диссертаций, допустим, высшая планка

или низшая планка, то с моей точки зрения, эта работа она находится даже выше самой высшей планки. Это вообще прекрасная работа. Иван Владимирович является отличным специалистом и у меня вообще нет никаких сомнений, что эта работа заслуживает, чтобы ему присудили искомую степень кандидата химических наук по специальности «Биоорганическая химия».

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо большое. Пожалуйста, Иван Владимирович, отвечайте на вопросы и замечания.

Богданов И.В.:

Во-первых, хотелось бы поблагодарить обоих оппонентов за тщательное скрупулезное исследование работы. И мне хотелось бы ответить на замечания оппонента. По поводу литературного обзора. Мы пытались сделать равные части, разбить литобзор на две части. Одна из этих частей посвящена описанию этих белков с фундаментальной точки зрения. То есть что они делают в растении, их характеристика, а другая часть посвящена прикладному значению этих белков. Части примерно равные и мне кажется, что более менее нам удалось достичь этого компромисса. По поводу того, что поиск вот этого белка был осуществлен, как вы выразились, «обратный». Действительно обычно по биологическим активностям анализируются фракции, но дело в том, что разные представители липид-транспортующих белков обладают разными активностями. Не все обладают антимикробной активностью, хотя большинство, безусловно, обладает этой активностью. Какие-то способны связывать липиды, а какие-то нет. Некоторые липид-транспортующие белки обладают способностью ингибировать развитие вирусов, другие обладают противоопухолевым эффектом. И мы не знали, какими активностями обладает данный белок, но мы точно знали, какую он должен иметь молекулярную массу. По поводу «Заключения». Мы оформили раздел заключение в виде выводов для того чтобы нагляднее представить степень достижения поставленных в разделе «Введение» задач, хотя может быть некое более общее заключение было бы, несомненно, дополнением данной диссертационной работы. По поводу сигнальных последовательностей. Несмотря на то, что липид-транспортующие белки синтезируются в растительных клетках в виде пребелков, содержащих сигнальную последовательность и являются секреторными белками, имеющими преимущественно внеклеточную локализацию, для ряда липид-транспортующих белков была показана нехарактерная внутриклеточная локализация. Это, например, LTP, выделенные из семян клещевины, вигны и перца. Показано, что LTP подсолнечника способен изменять свою локализацию: в покоящихся семенах он находится в апопласте, но при набухании и прорастании семени он проникает внутрь клеток и попадает в органеллы, участвующие в метаболизме липидов. Ввиду этого, мы нигде не утверждаем именно внеклеточную или внутриклеточную локализацию обнаруженных белков. По поводу замечания о сродстве я полностью согласен с вами, что когда идет речь о параметрах связывания белка с разными лигандами, то лучше оперировать константами диссоциации. И методом флуоресцентного титрования липидов нами были установлены константы диссоциации для некоторых липидов, однако при проведении исследования со связыванием липидных молекул липид-транспортующими белками нашей первоочередной задачей было показать способность как таковую связывать те или иные липиды, а также провести сравнительное исследование эффективности конкурентного вытеснения флуоресцентного зонда из гидрофобной впадины белка. И последнее замечание, а нет, не последнее. По поводу конститутивных и тканеспецифичных промоторов. Целью проведенной диссертационной работы было исследование экспрессии самих белков, а не регуляции их экспрессии, что представляет собой отдельную научную проблему, поэтому в работе регуляция экспрессии и не обсуждается. И последнее про вирусы. Спектр выявленных биологических активностей как я уже сказал широк для различных представителей данного класса белков, и с каждым годом он расширяется. Описана и противоопухолевая активность, и противовирусная, и в феврале этого года была опубликована статья, посвященная анельгезирующим свойствам одного из представителей. Касательно противовирусных свойств существует всего одна статья к настоящему моменту, которая показывает противовирусные свойства одного из представителей, поэтому мы не стали формулировать таких далеко идущих выводов о возможности участия данных белков в защите растения от вирусов, хотя это безусловно, может иметь место в

растении. Спасибо.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо большое. Открыты прения. Пожалуйста, кто бы хотел выступить с дискуссией. Пожалуйста.

Д.х.н. Уткин Ю.Н.:

Уважаемые коллеги, мы прослушали прекрасный доклад, прекрасные ответы на замечания. В выступлениях оппонентов прозвучало уже, что это довольно всеобъемлющая работа. Ну и казалось бы, что еще ждать от Института биоорганической химии. Но на самом деле работа, выполненная в Институте биоорганической химии, еще сама по себе не гарантирует того, что она будет высокого уровня, и за всем этим стоит достаточно тщательное планирование эксперимента и большой труд диссертанта. И, собственно, то, что здесь было представлено, оно и определяет лицо Института биоорганической химии, и я призываю членов диссертационного совета поддержать эту работу. Спасибо.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Так, пожалуйста, еще.

Чл.-корр. РАН, д.б.н. Завриев С.К.:

Уважаемые коллеги, я бы хотел, не задерживая вашего внимания, сказать, что работа, как и говорил и Алексей Владимирович, и Евгений Сергеевич, действительно очень хорошая и тут первое, что хочется сказать, что слов нет. Наверное я хотел бы отметить то, в принципе, что на самом деле если эти белки уже охарактеризованы настолько хорошо, и они могут быть полезны и в медицине и в сельском хозяйстве в частности, и противовирусным действием обладают, и противораковым действием обладают, и транспортными свойствами обладают, и фитопатогены убивают, то хорошо было бы эту работу посмотреть в том плане, чтобы научиться этот белок рекомбинантный выделять в таком количестве, чтобы он мог оправдать его применение в медицине, и тем более, в сельском хозяйстве. Поэтому, вот, работа замечательная в этом плане, не говоря уже о том, сколько там использовано методов, насколько она тщательна, об этом я тоже не буду говорить. Поэтому я призываю всех членов диссертационного совета проголосовать и поддержать эту работу. Спасибо.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Спасибо. Еще есть желающие? Не вижу. Тогда пожалуйста, Иван Владимирович, вам заключительное слово.

Богданов И.В.:

Мне хотелось бы поблагодарить членов диссертационного совета за то, что у меня была сегодня возможность представить свою работу здесь, в этом Институте. Мне хотелось бы поблагодарить оппонентов за исследование диссертации, за отзывы положительные, и ведущую организацию тоже. Мне очень хотелось бы поблагодарить своего научного руководителя, Татьяну Владимировну, за то, что 6 лет назад вы меня взяли в качестве студента в Учебно-научный центр для написания дипломной работы, а потом в аспирантуру. За то, что иногда работа не шла и вы к этому относились нормально, что нужно продолжать работать и преодолеть то, что не получается. За это я вам очень сильно благодарен. И за то, что у меня была возможность провести диссертационную работу именно в этом структурном подразделении Института. Также хочу поблагодарить членов коллектива Учебно-научного центра за то, что, когда я пришел, вы обучили меня методикам и советам помогали на протяжении всего этого времени. Особенно хотелось бы высказать благодарность Екатерине Финкиной, Дарье Мельниковой, Баландину Сергею. Хотелось бы также высказать благодарность лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии, в которой была установлена пространственная структура белка, и членам лаборатории химии липидов, которые помогали тоже и поделились какими-то липидами. Хотелось бы поблагодарить всех вас за внимание. Спасибо.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Объявляется перерыв на голосование, просьба не расходиться.

(Проводится голосование).

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Итак, объявляем итоги голосования.

Уч. секретарь, д. ф.-м. н. Олейников В.А.:

Защита Богданова Ивана Владимировича. Роздано бюллетеней – 21, в урне – 21, «За» – 21, «Против» и недействительных бюллетеней нет.

Зам. председателя, член-корр. РАН Липкин В.М.:

Прошу утвердить итоги голосования. Все «за»?

(Происходит обсуждение проекта заключения. Заключение принято единогласно).

Поздравим диссертантов.

**Зам. председателя диссертационного совета
чл.-корр., д.х.н.**

Липкин Валерий Михайлович

**Уч. секретарь диссертационного совета
д.ф.-м.н.**

Олейников Владимир Александрович

