

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 14 декабря 2016 г. № 15

О присуждении **Богданову Ивану Владимировичу**, гражданину РФ, учёной степени кандидата химических наук.

Диссертация «Новые липид-транспортирующие белки растений семейства *Fabaceae*» по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия принята к защите 12 октября 2016 г., протокол № 12, диссертационным советом Д 002.019.01 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, Российская Федерация, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, д.16/10), действующим на основании приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.

Соискатель Богданов Иван Владимирович, 1989 года рождения, в 2011 году окончил дневное отделение факультета физиологии Российского университета дружбы народов, в период подготовки диссертации с ноября 2011 года по октябрь 2015 года обучался в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. В настоящее время работает младшим научным сотрудником отдела «Учебно-научный центр» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. Диссертация выполнена в Учебно-научном центре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор химических наук **Овчинникова Татьяна Владимировна**, работает в должности заведующей отделом «Учебно-научный центр» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Северин Евгений Сергеевич, член-корреспондент РАН, доктор химических наук, профессор, заведующий отделом нанобиотехнологии Всероссийского научного центра

молекулярной диагностики и лечения;

Бабаков Алексей Владимирович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории стрессоустойчивости растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН) в своем положительном заключении, подписанном д.б.н., проф. Топуновым Алексеем Федоровичем, зав. лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота ФИЦ Биотехнологии РАН и утвержденном директором ФИЦ Биотехнологии РАН чл.-корр. РАН, д.х.н., проф. Поповым Владимиром Олеговичем, указала, что диссертационная работа Богданова Ивана Владимировича представляет собой законченное научное исследование, которое по содержанию, актуальности выбранной темы, структуре и уровню выполнения поставленных задач и степени обоснованности выносимых на защиту положений и выводов полностью удовлетворяет требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. № 748), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сам диссертант, несомненно, заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Соискатель имеет 34 опубликованных работы, по теме диссертации 34 работы, в том числе 4 статьи объемом 5,65 печ. л. в научных журналах, входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus, и 2 заявки на патент РФ. Наиболее значимые работы по теме диссертации, в которые автор внес основной вклад:

- 1) **Ivan V. Bogdanov**, Zakhar O. Shenkarev, Ekaterina I. Finkina, Daria N. Melnikova, Eugene I. Rumynskiy, Alexander S. Arseniev, Tatiana V. Ovchinnikova. A novel lipid transfer protein from the pea *Pisum sativum*: isolation, recombinant expression, solution structure, antifungal activity, lipid binding, and allergenic properties // BMC plant biology – 2016. – V. 16. – No. 1(107).DOI 10.1186/s12870-016-0792-6.
- 2) **Богданов И.В.**, Финкина Е.И., Баландин С.В., Мельникова Д.Н., Стукачева Е.А., Овчинникова Т.В. Структурно-функциональная характеристика рекомбинантных изоформ липид-транспортирующего белка чечевицы // Acta Naturae – 2015. – Том 7. – Вып. 3. – № 26. – С. 72–81.

- 3) **Богданов И.В.**, Финкина Е.И., Мельникова Д.Н., Овчинникова Т.В. Аллерген гороха Pis s 3 для диагностики и терапии пищевой аллергии и способ его выделения из природного сырья // Заявка на патент РФ №2016129502 (045848) от 19.07.2016.
- 4) **Богданов И.В.**, Баландин С.В., Овчинникова Т.В. Плазмидный вектор pET-pPsLTP, штамм бактерии Escherichia coli BL21(DE3)Star/pET-pPsLTP – продуцент пищевого аллергена гороха Pis s 3 и способ получения указанного аллергена // Заявка на патент РФ №2016129503 (045849) от 19.07.2016.

На диссертацию поступили отзывы:

1. Официального оппонента чл.-корр. РАН, д.х.н. Северина Е.С., отзыв положительный. При ознакомлении с диссертацией возник вопрос оппонента: планируется ли автором экспериментальная работа с целью проверить предположение о том, что у растительных липид-транспортующих белков некоторые аминокислоты могут играть роль как в связывании с липидами, так и в связывании с антителами? Кроме этого, оппонент отметил, что в работе есть несколько незначительных опечаток.

2. Официального оппонента д.б.н. Бабакова А.В., отзыв положительный. Со стороны оппонента имеются следующие замечания и пожелания: ошибка при указании оптического пути кюветы при измерении КД – 0,01 см вместо 0,1 см; в работе не хватает раздела «Заключение», в котором следовало бы более подробно, чем в выводах подвести итоги своей исследовательской работы; автором показано, что в растении гороха синтезируется предшественник Ps-LTP1, несущий на своем N-конце сигнальный пептид, однако этот факт нигде не обсуждается, а из него следует, между прочим, локализация Ps-LTP1 в апопласте, и все рассуждения о механизме действия этого белка должны исходить с учетом этого факта; 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, как это сделано в диссертации; диссертантом показано, что белок Ps-LTP1 экспрессируется в зародыше, тогда как Ps-LTP2,3 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 Ps-LTP2,3 – под управлением конститутивных; основываясь на установленной способности Ps-LTP1 разрушать фосфолипидные мембраны, следовало обсудить возможное участие этого белка в защите от вирусов, имеющих оболочку (enveloped viruses), таких, как, например, растительные рабдовирусы.

3. Ведущей организации, отзыв положительный. При ознакомлении с диссертацией

возникло замечание по литературному обзору об отсутствии суммирующего заключения, а также два замечания терминологического характера: термин «аспартильные протеиназы» уже несколько лет заменен на «аспартатные 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 чем более правильным будет выражение «иммуноаффинная хроматография на поликлональных антителах, иммобилизованных на активированной бромцианом сефарозе».

На автореферат поступили отзывы:

1. Доктора биологических наук, профессора кафедры физиологии Сочинского института Российского университета дружбы народов (СИ РУДН) Рыбалко Анатолия Евдокимовича, отзыв положительный, замечаний нет.

2. Доктора биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории биотехнологии растений Филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ФИБХ РАН) Рукавцовой Елены Борисовны, отзыв положительный, замечаний нет.

3. Кандидата биологических наук, заведующего сектором генетики фототрофных организмов Института фундаментальных проблем биологии РАН (ИФПБ РАН) Бутанаева Александра Михайловича, отзыв положительный, замечаний нет.

4. Кандидата медицинских наук, старшего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП») Шмалый Аллы Вячеславовны, отзыв положительный, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их достижениями в областях науки, соответствующих теме представленной диссертации. Стоит отметить, что сотрудниками ФИЦ Биотехнологии РАН ведутся работы по применению иммунохимических методов анализа для оценки аллергенности пищевых продуктов, изучению участия ингибиторов ферментов в защитных механизмах растений, разработке биотехнологических методик выделения рекомбинантных ферментов. Научные интересы Северина Евгения Сергеевича и сотрудников руководимого им отдела нанобиотехнологии связаны с получением и изучением рекомбинантных пептидов и белков с целью их применения в медицине. Под руководством Бабакова Алексея Владимировича активно изучаются вопросы создания трансгенных растений, несущих гены защитных пептидов, а также изучения дифференциальной экспрессии генов экстремофильного растения *Thelungiella salsuginea*. Наличие солидного опыта и высокой квалификации в приведенных выше областях подтверждается наличием у официальных

оппонентов и ведущей организации значительного количества публикаций в ведущих российских и международных научных журналах и изданиях. Все это позволяет им объективно судить о научной новизне, а также теоретической и практической значимости диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что, на основании выполненных соискателем исследований, из семян пищевой культуры гороха посевного *Pisum sativum* выделен и охарактеризован новый пищевой аллерген *Pis s 3*, разработаны методы биотехнологического получения рекомбинантных аналогов растительных пищевых аллергенов *Pis s 3* и *Pru p 3*. Предложены оригинальные методики выделения природного аллергена *Pis s 3* из семян гороха и его рекомбинантного аналога из клеток *E.coli*. Доказана перспективность использования нового пищевого аллергена *Pis s 3* в компонентной диагностике аллергических заболеваний и последующей аллерген-специфической иммунотерапии.

Теоретическая значимость исследования состоит в получении новых знаний, обогащающих наши представления о разнообразии свойств растительных липид-транспортирующих белков, которые могут стать основой для их дальнейших структурно-функциональных и иммунологических исследований, включая изучение молекулярных механизмов их антимикробного действия, липид-связывающей и липид-транспортирующей активностей, а также аллергенных свойств с целью практического применения в медицине для создания гипоаллергенных форм клинически значимых аллергенов. На основании полученных структурно-функциональных данных впервые высказано предположение о возможности существования у растительных липид-транспортирующих белков единого центра, участвующего в связывании с антителами класса IgE и липидными лигандами.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что предложено использование обнаруженного нового аллергена для диагностики и лечения пищевых аллергических реакций на горох. Использование данного аллергена расширяет ассортимент растительных аллергенов, которые могут быть применены для компонент-разрешающей алергодиагностики. Кроме этого предложены методики его выделения из природного сырья и получения рекомбинантного аналога.

Применительно к проблематике диссертации результативно, с получением обладающих новизной результатов, использованы методы генной инженерии, гетерологической экспрессии и биоорганической химии для синтеза белков, обладающих

аллергенной активностью, методы микробиологии и биохимии для скрининга их биологической активности, а также физико-химические методы анализа для изучения возможных функций в растении и пространственной структуры белков.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что экспериментальные работы были проведены с использованием сертифицированного оборудования и материалов, показана воспроизводимость результатов исследования. Теоретические предположения и концепции, использованные в работе, построены на основе современных опубликованных экспериментальных данных по теме диссертации, а полученные автором результаты с ними согласуются. В ходе выполнения работы были использованы современные методики биоорганической химии и биотехнологии, а также методы статистической обработки полученных данных.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выборе основных направлений и методов исследования, получении и анализе экспериментальных данных. Весь экспериментальный материал получен лично автором, за исключением данных ЯМР-спектроскопии (лаборатория биомолекулярной ЯМР-спектроскопии ИБХ РАН). Автор лично участвовал в апробации результатов работы на научных конференциях. Подготовка основных публикаций по выполненной работе проводилась лично соискателем или при его непосредственном участии.

На заседании 14 декабря 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Богданову Ивану Владимировичу учёную степень кандидата химических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 7 докторов наук (по специальности 02.00.10 - биоорганическая химия), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 21 , против - 0 , недействительных бюллетеней - 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета,
чл.-корр. РАН

Липкин В.М.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.ф.-м.н.



Олейников. В.А.