

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 ученой степени кандидата биологических наук
Котовой Еленой Сергеевной
«Идентификация и анализ активности СТСФ-зависимых
регуляторных элементов»

по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Москва 2016 г.

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.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
21.	Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)

Валерий Михайлович Липкин:

- Значит кворум у нас есть, можем начинать заседание. Значит, у нас сегодня довольно большая программа. Значит, первое, это защита кандидатской диссертации. Котова Елена Сергеевна, “Идентификация и анализ активности СТСФ-зависимых регуляторных элементов” по специальности 03.01.03 – молекулярная биология на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Научный руководитель – доктор биологических наук Акопов Сергей Борисович. Официальные оппоненты: Пасюкова Елена Генриховна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией геномной изменчивости Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной генетики Российской академии наук, Величко Артем Константинович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. ну я не буду читать организацию, ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии Российской академии наук.

Владимир Александрович Олейников:

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).

Валерий Михайлович Липкин:

- Елена Сергеевна, пожалуйста, вам слово. Двадцать минут.

Елена Сергеевна Котова:

- Уважаемые председатель, члены комиссии, коллеги, разрешите представить мою диссертационную работу. (Излагает основные положения диссертационной работы).

Владимир Александрович Олейников:

- Спасибо. Пожалуйста, какие есть вопросы? Что, неужели нет вопросов?

Валерий Михайлович Липкин:

- Пожалуйста.

Владимир Александрович Олейников:

- А, вот.

Алексей Иванович Кузьмич:

- Были всё-таки в этой работе выявлены какие-то новые сайты связывания CTCF или это все известные ранее сайты?

Елена Сергеевна Котова:

- Да. Спасибо за вопрос. Да, в данной работе было выявлено большое количество новых сайтов связывания CTCF. Метод ChIP-seq позволяет выявлять сайты связывания CTCF в масштабах целого генома. Таким образом были выявлены тысячи новых сайтов связывания CTCF, не выявленных ранее. В альфа-глобиновом локусе были выявлены следующие сайты связывания CTCF (впервые). Сейчас. Во-первых, данный сайт связывания CTCF, расположенный рядом с главным регуляторным элементом, во вторых, сайт связывания CTCF, расположенный рядом с регуляторным элементом энхансер-сайленсер. Для него также была показана тканеспецифичная активность, так как он соответствовал фрагменту 10, выявленному с помощью двумерного EMSA и мы анализировали его связывание с CTCF иммунопреципитацией хроматина с анализом ПЦР в реальном времени. Также были выявлены и другие сайты связывания CTCF впервые. К примеру, сайт связывания CTCF, соответствующий пику номер один, и сайт связывания CTCF, соответствующий пику номер 9. Это только в локусе.

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо. Еще есть вопросы? Пожалуйста.

Георгий Вячеславович Шпаковский:

- Скажите, а вот сравнивали ваши результаты на альфа-глобиновом гене кур с данными ENCODE по человеку, соответственно, альфа-глобинам.

Елена Сергеевна Котова:

- В принципе, мы сравнивали, просто дело в том, что альфа-глобиновый локус человека довольно сильно отличается от альфа-глобинового локуса кур, так как в какой-то момент в ходе эволюции произошла инверсия и область локуса, содержащая ген TMEM8, она перевернута. И я так понимаю, там еще какая-то область локуса дублирована. То есть там другие пространственные взаимодействия несколько.

Георгий Вячеславович Шпаковский:

- Просто вы пишете о практическом значении возможном для так-сказать, поэтому ...

Елена Сергеевна Котова:

- Возможно да, это более подробное изучение будет происходить в дальнейшем.

Валерий Михайлович Липкин:

- Еще есть вопросы? Спасибо. Владимир Александрович.

Владимир Александрович Олейников:

- Так, значит в совет поступил отзыв от ведущей организации. Это Институт молекулярной биологии имени Энгельгардта. Отзыв положительный.

(Зачитывает отзыв, отзыв прилагается).

Сделано следующее замечание.

“...данная диссертация не лишена некоторых недостатков, прежде всего это касается расположения рисунков в диссертации. Обычно они расположены на удалении две-шесть страниц от места описания рисунка в тексте, в данной диссертации, что создает неудобство при прочтении.”

Ну, замечание, по-моему, там одно было.

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо. Елена Сергеевна, можете ответить на замечания.

Елена Сергеевна Котова:

- Я согласна с данным замечанием ведущей организации. Прошу прощения за такие вот недочеты в оформлении работы.

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! Слово предоставляется научному руководителю. Сергей Борисович, пожалуйста!

Сергей Борисович Акопов:

- Спасибо! Елена Сергеевна Котова появилась в нашей лаборатории довольно рано, где-то на третьем курсе. Она была студенткой кафедры биоорганической химии и за время пребывания в лаборатории она освоила множество ставших классическими методов молекулярного исследования и уже была готова к выполнению, так сказать, и курсовой и дипломной работы. Ко мне она попала на выполнение дипломной работы, освоила методы клеточного клонирования. И, так сказать, когда мы предложили по инициативе наших коллег из Института биологии гена работу, она была предложена Лене без сомнения. Так сказать, она была подготовлена всячески к выполнению этой работы. И работа представлялась нам как компактная, скорая в выполнении, очень изящная и эффективная. Но как всегда это бывает с первых этапов... Во-первых, Лене пришлось все делать самой с самого начала, не было совершенно ничего подготовлено к этой работе и следовала череда неудач. Я даже боялся, что у нее опустятся руки и навсегда исчезнет интерес к этой работе, но этого не произошло. К счастью, она преодолела все трудности, проявила бойцовские качества. И уже к завершению выполнения работы она сформировалась как такой вполне законченный научный сотрудник, склонный к анализу, обобщению, очень требовательный к себе, к своим результатам. Надо отметить, что Лена много читала и по началу она даже для того, чтобы понять чужую логику, она чертила схемы и перерисовывала графики прочитанных статей. Лена обладает легким, уживчивым характером. Ее очень быстро приняли в лаборатории, она стала таким звеном, организатором и под ее началом часто молодежь посещала различные выставки, музеи, театры. Лена активно занималась спортом и не смотря на ее хрупкое сложение, она выбирала такие виды, как дзюдо, самбо, верховая езда, сноуборд. К сожалению, Елена Сергеевна никогда не была комсомолкой, в противном случае выражение, ставшее афоризмом: “спортсменка, комсомолка и просто красавица”, характеризовало бы ее в полной мере. Не смотря на свой небольшой возраст, Лена семейный человек, она воспитывает прекрасную дочь Алису, которой скоро будет три года. Лена обладает тонким чувством юмора и это чувство позволило ей подгадать защиту диссертации к грядущему новому году, который будет годом петуха, исследованию генома которого она посвятила свою диссертацию. Завершая свою характеристику, хочу сказать, что Лена – совершенно сложившийся научный сотрудник и я очень высоко оцениваю ее работу и призываю членов ученого совета голосовать за нее. Спасибо!

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! Владимир Александрович, есть отзывы на автореферат?

Владимир Александрович Олейников:

- Да. Поступил один отзыв на автореферат. Он полностью положительный. Ну я зачитывать не буду, я просто скажу, что вот: ”автор использует интересную клеточную модель...выявлены некоторые интересные особенности распределения CTCF-связывающих областей...удалось идентифицировать как минимум четыре ранее неизвестных сайта связывания” ну и так далее. Значит, ну некоторые недочеты и

опечатки в автореферате встречаются, однако они не мешают восприятию материала. Значит, подписано: кандидат биологических наук Воробьева, это старший научный сотрудник кафедры гидробиологии МГУ имени Ломоносова.

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! А теперь слово официальных оппонентов, отзывы официальных оппонентов. Первый оппонент у вас Пасюкова Елена Генриховна, пожалуйста.

Елена Генриховна Пасюкова:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается.)

- Доброе утро, уважаемые коллеги! Мы заслушали доклад только что об очень интересной, как мне кажется, работе, которая посвящена исследованию регуляции экспрессии генов. В последнее время, как мне кажется, именно вот эта тематика является очень интересной, важной и актуальной, в связи с тем, что мы довольно много знаем теперь про геномы, про их последовательности, но пока еще очень мало знаем о том, как регулируется работа этих геномов и учитывая, что в каждом многоклеточном организме масса разных клеток, организм проходит разные стадии развития и так далее и так далее, именно вопросы регуляции экспрессии генов сейчас выходят на первое место по значимости. Ну и, в связи с этим, актуальность данной работы у меня лично не вызывает никаких сомнений. Елена Сергеевна для своего исследования выбрала очень удачный набор подходов, как мне кажется. Во-первых, это исследование конкретного локуса, альфа-глобинового, а во-вторых, это полногеномные исследования сайтов связывания белка CTCF. И, кроме того, она использовала и эксперименты *in vitro*, начиная с получения собственно самого белка, и эксперименты *in vivo*. И в результате именно вот такой вот набор методов, подходов обусловил и оригинальность, и новизну той работы, которую мы с вами сегодня слушаем. То есть сама работа, как было уже сказано здесь, построена по стандартному плану. Есть введение, очень толково написанное, достаточно краткое. Есть обзор литературы, который тоже по объему не велик, но по объему информации очень и очень достойно выглядит и мне кажется, что Елена Сергеевна вполне продемонстрировала свою эрудицию в той области, в которой она работает, в этом обзоре. К этой части работы у меня есть пара-тройка мелких замечаний. Ну, для примера приведу одно. Ну, скажем, когда описываются данные о сайтах связывания этого белка CTCF, известные из литературы, приводятся сначала более ранние исследования и некая структура этих сайтов связывания, потом более поздние исследования и тоже некая структура сайтов связывания. Не очень я смогла связать, как вот эти вот две модели, две эти структуры связаны между собой. Я бы что-нибудь на эту тему объяснила. Ну это в общем все мелочи. Как ни странно, самая большая претензия у меня связана с тем, как используются сокращения. Это тоже абсолютно техническая претензия, то есть не по существу работы, а по форме, но сокращений там много, и они как-то очень беспорядочно... Есть список сокращений в конце работы, как положено. Тут с этим все хорошо. Но в самом тексте они то расшифровываются, то не расшифровываются. Иногда это мешает. Вот мы с вами видели задачи, их много. И в одной из них – в четвертой – говорится о том, что будет использован метод хроматиновой иммунопреципитации. В пятой говорится, что будет использован метод ChIP-seq, а потом еще дальше в тексте сам

автор приводит много разных модификаций этой хроматиновой преципитации. В общем вот это как-то мне мешало, хотя это опять-таки мелочи. Что касается методов, то методов, ну все слышали, очень много. Они самые разнообразные. Они очень сложные. И они описаны не только в самой главе “Материалы и методы”, но и в результатах, что очень хорошо, то есть описанию результатов предшествует такое принципиальное описание методов. Причем это настолько удачно сделано, что вот я бы главу “Методы”, если б это можно было сделать в такой цензовой работе, перенесла бы на... Дальше после результатов, потому что, в общем, они нужны только для уточнения всяких деталей. Они, действительно, очень детально написаны. Вот в статьях такой порядок бывает иногда, вот он тут был бы уместен, потому что, в общем, все методические подходы, они очень так адекватно описаны в главе “Результаты”. Методы очень сложные, как вы видели из доклада. Значит, интерпретировать их чрезвычайно сложно. Все модификации хроматин-иммунопреципитации, EMSA, особенно двумерный EMSA, особенно тот, который еще с торможением. И мне кажется, что вот то, как были проанализированы все эти данные то, как они проинтерпретированы то, как они обсуждены очень аккуратно, все вот это свидетельствует в общем о достаточно хорошем уровне профессионализма соискателя. То есть нет никаких так сказать заскоков, каких-то слишком сильных интерпретаций. Все очень качественно и профессионально сделано. Ну, что касается замечаний, то у меня нет никаких замечаний по существу к тому, что представлено в диссертации. Есть некий набор технических замечаний, для примера скажу следующие: ну вот для того, чтобы получать фрагменты ДНК, использовались две мелкощепящих рестриктазы. Поскольку работа цензовая, я бы объяснила, почему, скажем, две. Мне это не очень осталось понятно, может быть, потому что я не такой узкий специалист в этой области. Но то, что их было две, затруднило дальше интерпретацию вот этих вот всех библиотек, которые были получены, мне так показалось. Но во всяком случае я бы была рада увидеть какое-то объяснение, почему их было две. Ну есть какие-то совсем технические огрехи - не указаны оси на двух рисунках. Ну вот скажем, есть такое там выражение, что занятость сайта белком достоверно отличалась. Вот мне бы, как человеку педантичному хотелось, чтобы эта занятость была охарактеризована каким-то мерным признаком. То есть, что такое занятость достоверно отличается и приводится критерий Стьюдента. Хочется увидеть все-таки что мерили. Ну и так далее. Вот такого вот сорта мелкие замечания, которые, как мне кажется, совершенно не снижают достоинств и ценности этой работы. Мне еще показалось, что вывод первый, который верен по существу, звучит не совсем как вывод. Ну. Это может быть отчасти дело вкуса, но все-таки вот у меня такое было впечатление. Ну, в целом, еще раз повторю, что все эти замечания, как вы могли понять из того, что я сказала здесь в качестве иллюстрации, ни как не снижают ценности работы. Мне кажется, что все формальности полностью хороши, то есть работа соответствует всем требованиям того положения, которым мы теперь руководствуемся при присуждении ученых степеней. Все замечательно опубликовано, представлено на конференциях. Автореферат мне показался вполне соответствующим работе ну и так далее. То есть все формальные критерии мне показались более, чем удовлетворительными. А, соответственно, и работа заслуживает всего, что следует, и соискатель тоже. Спасибо за внимание!

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! Елена Сергеевна, пожалуйста, ответьте на замечания.

Елена Сергеевна Котова:

- Спасибо большое! Я согласна со всеми замечаниями по поводу недостатков оформления, недостатков технического характера в плане написания текста диссертации и прошу прощения за эти недостатки. По поводу использования двух мелкощепящих рестриктаз, мы решили, что необходимо, чтобы исходная библиотека для двумерного EMSA состояла из двух перекрывающихся суббиблиотек, так как расщепление одной рестриктазой могло бы разрушать некоторые CTCF-связывающие последовательности. Сайт...Консенсусная последовательность сайта связывания CTCF, она очень вырожденная и можно себе представить такую ситуацию, что происходило бы расщепление некоторых сайтов связывания CTCF одной рестриктазой и мы бы просто не могли их идентифицировать в результате. По поводу связывания белка CTCF, которое мы оценивали. Когда мы проводили анализ иммунопреципитата хроматина, результаты ПЦР в реальном времени были представлены двумя способами. Во-первых, мы вычисляли процент содержания данного фрагмента в иммунопреципитате относительно Input. И это название было не трудно указать на рисунке, как подпись к оси. А другой способ, это полученные таким образом, вычисленные таким образом результаты, мы относили еще к содержанию одного из известных CTCF-связывающих фрагментов, которые у нас в роли положительных контролей выступали. И здесь бы просто получилось слишком длинное название в подписи к оси. В принципе, в тексте расшифровано каким образом мы получали эти данные, но может быть я это сделала немного непонятно, немного громоздко и прошу прощения за это.

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! Так, следующий оппонент у нас Величко Артем Константинович, пожалуйста!

Артем Константинович Величко:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается.)

- Добрый день, уважаемые коллеги, уважаемые члены диссертационного совета! Я много вашего времени отнимать не буду. Значит, сразу должен сказать, что работа Елены Сергеевны Котовой произвела на меня достаточно благоприятное впечатление, потому что работа интересная, грамотно продуманная, сделана с использованием большого количества разнообразных методических подходов. И, что важно, посвящена изучению одного из интереснейших белков – белка CTCF, который, с одной стороны, уже исследован вдоль и поперек, а, с другой стороны, продолжает преподносить сюрпризы для тех, кто его изучает. Должен сказать, что сам я родом из лаборатории Сергея Владимировича Разина, что в Институте биологии гена, и наша лаборатория испокон веков занимается изучением структурно-функциональной организации хроматина, в общем, и изучением структуры глобинового локуса кур, в частности. Поэтому, в общем-то, мне не понаслышке известно, насколько белок CTCF является таким сокровищем объектом для тех людей, которые занимаются изучением хроматина. Тем более, что в последнее время считается вообще, что CTCF является чуть ли не одним из основных белков, который организует пространственную структуру хроматина и архитектуру

генома в целом. Поэтому, конечно, изучение функциональных свойств CTCF является сейчас важной, актуальной задачей для молекулярной биологии, в частности, и для фундаментальной науки, вообще. Поэтому, Елена Сергеевна, в общем-то, попала в русло этого важного направления и, на мой взгляд, внесла определенный вклад в наше понимание некоторых особенностей функционирования этого белка. Значит, о каком понимании я говорю. На мой взгляд, важнейшим выводом диссертационной работы является то, что продемонстрировано, что CTCF *in vitro* ведет себя совершенно не так, как *in vivo*. То есть мне большинство на это, конечно, скажут, ну это и так понятно и вообще зачем это все изучать. Я насколько помню, есть в психологии такой термин, как эффект хинсайта или ошибка хинсайта. Вот это именно из той серии, когда всем вроде понятно, что это так должно быть, но никто это не удосужился еще проверить. Вот Елена Сергеевна это проверила и сделала это, в общем, достаточно обстоятельно и обосновано. Второй важный вывод из работы это то, что при эритроидной дифференцировке происходит падение оккупированности своих сайтов CTCF. И не смотря на то, что, в общем-то, в работе этот вывод дальше никак не процессируется, в общем, это очень важный результат, очень интересный результат. И я надеюсь, что Елена Сергеевна и ее коллеги в дальнейшем как-то будут этот результат процессировать, потому что, в общем-то, ни в коем случае нельзя его оставлять без внимания. Но, моя функция, как оппонента, не только хвалить, но и, наверное, сделать какие-то там замечания. В общем-то, у меня их не много. Они достаточно такого оформительско-редакционного характера. Они, в общем-то, все в отзыве отражены, но я вкратце по ним пройду. Значит, для начала, что касается обзора литературы. Значит, в целом, обзор литературы написан хорошо, дает представление об области исследования, однако, на мой взгляд, слишком мало внимания все-таки уделено структурно-функциональным особенностям глобинового локуса, который, собственно, является основной моделью для исследования. То есть этот вопрос частично рассматривается во “Введении”, но там это делается практически без литературных ссылок. Поэтому, в общем-то, хотелось бы видеть в литературном обзоре такие разделы, как, например, характеристика доменов открытого типа, к которым относится альфа-глобиновый локус, какие-то структурно-функциональные особенности организации этого локуса, а также CTCF-зависимые регуляторные элементы, характерные для него, тем более, что, в общем-то, данных по этому вопросу предостаточно в литературе. Значит, теперь по поводу раздела “Результаты и обсуждение”. Здесь, в принципе, у меня не много замечаний. В частности, например, там на 59 странице демонстрируется вестерн-блот анализ клеточных лизатов. Написано, что вестерн блот к CTCF и гистидиновому тагу, хотя на картинке только к CTCF. Дальше, значит, в разделе “Анализ способности белка CTCF с N-концевым гистидиновым тагом взаимодействовать с CTCF-связывающими последовательностями” автор использует для доказательства правильной функциональной активности рекомбинантного CTCF метод EMSA. Ну, это все прекрасно, но все-таки это такая *in vitro* модель и, на мой взгляд, более надежной проверкой способности рекомбинантного белка проявлять свои функциональные свойства, это все-таки сделать иммунопреципитацию, то есть ChIP на клетках с оверэкспрессией рекомбинантного CTCF в тех клеточных линиях, в которых заведомо сайты CTCF были прокартированы. Ну, условно говоря, HeLa. В HeLa, по-моему, все прекрасно картировано, и можно посмотреть, будет ли садиться на них рекомбинантный CTCF или не будет. Далее, 76 страница, автор пишет: “смещение и исчезновение полос, соответствующих ДНК-белковым комплексам, после добавления антител к CTCF и

гистидиновому тагу, свидетельствует о том, что именно CTCF, присутствующий в ядерном экстракте, взаимодействует с каждым из фрагментов ДНК”. Значит, было бы неплохо добавить к этому эксперименту, наверное, контроль на неспецифическое связывание антител, то есть инкубировать с какими-нибудь не иммуноглобулинами, а с какими-нибудь неспецифичными антителами. И странно, что это не было сделано, потому что, поскольку постольку, в последующих экспериментах по ChIP-seq и ChIP в общем-то такие контроли сделаны были. В диссертации есть, совершенно не большое количество таких чисто оформительских замечаний, ну и, на мой взгляд, более эстетично текст выглядит, когда он центрирован по обоим краям, а не только слева. Ну и еще раз вернемся к картинкам. Помимо того, что картинки далеко от их подписей, они еще и на совершенно разных страницах находятся и это немного затрудняет восприятие текста. Но все эти замечания носят рекомендательный характер и нисколько не умаляют ценности работы. Еще раз повторюсь, что работа, на мой взгляд, более чем достойна и я зачитаю фразу, что представленная диссертационная работа Котовой Елены Сергеевны «Идентификация и анализ активности CTCF-зависимых регуляторных элементов» полностью соответствует требованиям положения о присуждения ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 и предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «Молекулярная биология». Спасибо за внимание!

Валерий Михайлович Липкин:

- Пожалуйста, ответьте на замечания!

Елена Сергеевна Котова:

- Спасибо большое! Я согласна со всеми замечаниями по поводу оформления Диссертационной работы. Прошу прощения за недочеты! По поводу замечания о том, что необходимо было бы добавить к анализу методом дополнительного сдвига электрофоретической подвижности контроль, в котором ДНК-белковые комплексы инкубировались бы с какими-нибудь неспецифичными антителами. Такие контроли были поставлены ранее, они не были приведены в данной работе. В работе был приведен другой контроль, который показывает, что фрагмент ДНК, не связывающий CTCF, в присутствии антител не дает никаких дополнительных взаимодействий. Т.е. сами антитела никак не сорбируют фрагмент ДНК. Но вот такой контроль тоже был поставлен ранее, просто не приведен. Далее было предложено поставить контроль на экспрессию белка CTCF с гистидиновым тагом в клетках и методом иммунопреципитации хроматина посмотреть какие участки ДНК он связывает. Мы думали, что в данных условиях будет наблюдаться повышенная экспрессия белка CTCF, в любом случае, т.е. помимо нативного белка CTCF (эндогенного), будет присутствовать еще белок CTCF, который будет нарабатываться с конструкции и, возможно, это как-то изменит картину связывания. Этот контроль интересно было бы поставить, но он бы, возможно, не дал бы полной информации. Мы считали, что использование метода двумерного EMSA для поиска CTCF-связывающих последовательностей *in vitro* достаточно для того, чтобы белок с гистидиновым тагом показывал специфичное связывание с CTCF-связывающими фрагментами в этих условиях. Спасибо!

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! Работа открыта для дискуссий! Кто хотел бы высказаться? Пожалуйста!

Евгений Давидович Свердлов:

- Я хотел бы сказать, что Елена Сергеевна делала эту работу очень упорно, очень последовательно, очень грамотно. Ей пришлось решать много задач, которые были неожиданными, начиная с выделения белка и очистки – это заняло очень много времени, и в первом варианте доклада этому было уделено очень большое внимание, потому что, как я понимаю, Елена Сергеевна вложила в это очень много сил и упорства. Я считаю, что Елена Сергеевна сложившийся научный работник, очень грамотный, владеющий большим количеством экспериментальных методов, хорошо владеющий современными методами их анализа, что на сегодняшний день очень важно. Это и биоинформационные методы. Все это она делала самостоятельно – обработку данных массивированного секвенирования. Я думаю, что не вызывает сомнения, то что она заслуживает присуждения искомой степени и призываю членов ученого совета за это проголосовать. Спасибо!

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! Есть ли еще желающие выступить? Елена Сергеевна, вам заключительное слово.

Елена Сергеевна Котова:

- Вначале хочу поблагодарить всех людей, которые помогли мне в выполнении данной работы: своего научного руководителя Акопова Сергея Борисовича, руководителя лаборатории Свердлова Евгения Давидовича, коллектив лаборатории, своего первого научного руководителя на курсовой работе, который помог мне освоить много методик, Буланенкову Светлану, хочу поблагодарить свою семью, которая очень сильно меня поддерживала во время подготовки к защите диссертации, - своих родителей, бабушку, мужа Дмитрия Дидыча. Спасибо большое всем, а также, естественно, всем присутствующим, членам комиссии и коллегам!

Валерий Михайлович Липкин:

- Спасибо! Значит, у нас предлагается следующий состав счетной комиссии, без имен и отчеств, и титулов. Богданов, Шпаковский, Олейников. Есть ли у кого возражения, самоотводы, отводы? Поступает приглашение - прошу проголосовать! Против есть? Не вижу. Воздержавшихся? Тоже нет. Значит – комиссия выбрана.

Валерий Михайлович Липкин:

Объявляется перерыв на голосование.
(Проводится голосование).

Владимир Александрович Олейников:

- Значит и так! Защита Котовой Елены Сергеевны. Результат заседания счетной комиссии – роздано бюллетеней было 21, оказалось в урне бюллетеней 21, за – 21, против – нет,

недействительных – нет. Вам всем были розданы заключения Диссертационного совета. Все ознакомились. Есть ли замечания по заключению? Есть вот у Юрия Борисовича.

Юрий Борисович Лебедев:

- Я бы предложил, с точки зрения русского языка, уточнить редактирование предпоследнего абзаца на последнем листе – «Диссертационный совет отмечает, что...».

(Проходит обсуждение проекта заключения. Заключение принято единогласно).

Валерий Михайлович Липкин:

Прошу утвердить итоги голосования. Все «за». А теперь давайте поздравим диссертанта!

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

Липкин Валерий Михайлович

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



Олейников Владимир Александрович