

СТЕНОГРАММА

Заседания 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

20 февраля 2019 года

Защита диссертации
на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Мамонтовой Анастасией Вячеславовной

"Увеличение фотостабильности зеленых флуоресцентных белков в
живой клетке путем блокирования фотоиндуцированного переноса
электрона"

специальность: 03.01.03 — молекулярная биология

Москва —2019

СТЕНОГРАММА

Заседания 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 от 20 февраля 2019 года.

Председатель
диссертационного совета

д.х.н., академик РАН **Иванов Вадим Тихонович**

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. **Олейников Владимир Александрович**

Из 30 членов совета присутствует 22 человека, из них докторов по профилю диссертации – 5.

1.	Академик РАН	Иванов Вадим Тихонович	(02.00.10)
2.	Д.физ.-мат.н.	Ефремов Роман Гербертович	(02.00.10)
3.	Член-корр. РАН	Липкин Валерий Михайлович	(03.01.06)
4.	Д.физ.-мат.н.	Олейников Владимир Александрович	(03.01.06)
5.	Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
6.	Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
7.	Член-корр. РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
8.	Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
9.	Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
10.	Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
11.	Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
12.	Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
13.	Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
14.	Д.б.н.	Мурашев Аркадий Николаевич	(03.01.06)
15.	Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
16.	Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
17.	Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
18.	Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
19.	Академик РАН	Свердлов Евгений Давидович	(03.01.03)
20.	Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
21.	Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
22.	Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)

Иванов Вадим Тихонович: Заслушаем доклад Анастасии Вячеславовны Мамонтовой, кандидатская диссертация. Вначале материалы личного дела.

Олейников Владимир Александрович:

(Зачитывает документы, содержащиеся в личном деле соискателя. Отмечает, что материалы личного дела и документы предварительной экспертизы соответствуют требованиям Положения ВАК)

Итак, Российская Федерация, Анастасия Вячеславовна Мамонтова. Окончила в 2014 году МГУ по специальности «биохимия». С 2015 года по настоящее время младший научный сотрудник лаборатории биофотоники, также, как и предыдущая защита. Кандидатский экзамен по специальности «Молекулярная биология» сдан с оценкой отлично. Выполнена работа в лаборатории биофотоники нашего института. Научный руководитель Богданов Алексей Михайлович, старший научный сотрудник лаборатории биофотоники. По теме диссертации опубликовано 4 статьи в журналах, входящих в базу Web of Science, то есть, автоматически в перечень ВАК. Объявление о защите автореферата, диссертации размещены на сайте ВАК вовремя, 19 декабря 2018 года. И все необходимые документы в деле есть.

Иванов Вадим Тихонович: Вопросы, замечания, исправления, дополнения? Все, по-видимому, корректно. Ну, что ж, Анастасия Вячеславовна, 20 минут.

Мамонтова Анастасия Вячеславовна:

(Излагает основные положения диссертационной работы)

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо за доклад. Вопросы? Вы немножко устали, или все очень ясно доложено. Вопросов не вижу. Отдохните пока немножко. Дальше у нас, я так понимаю, ведущая организация должна.

Олейников Владимир Александрович:

(Зачитывает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).

Да, отзыв ведущей организации. Ведущая организация – это Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии». Отзыв полностью положителен. И отзыв, в общем, меня очень удивил, поскольку я не нашел в нем замечаний. Но, тем не менее, что они пишут?

«О флуоресцентных белках: с момента клонирования... Вот. Несмотря на очевидные преимущества флуоресцентных белков, существует ряд недостатков, одним из которых является фотообесцвечивание. Про его механизмы известно не так много. Достоверно можно сказать только, что в основе лежат обратимые или необратимые нарушения структуры хромофора.

И дальше идет речь об окислительной фотоконверсии, которая является основной причиной фотообесцвечивания зеленых флуоресцентных белков в живых клетках. Детальное понимание механизмов этого процесса, участия в нем аминокислот белка и разработка методов борьбы с окислительной фотоконверсией является важной теоретической, экспериментальной задачей, которой посвящена данная диссертационная работа».

Далее о структуре диссертации. Обзор. «Написан понятным языком, хорошо подготавливает читателя к восприятию следующих разделов.» Материалы, методы. «Достаточно подробно, емко описана методическая база, на которую опирается работа. Помимо стандартных методов биохимии, молекулярной и клеточной биологии, также кратко описаны принципы молекулярного моделирования и квантовых химических расчетов.»

Собственно, содержательную часть работы, представленную в разделе «Результаты и обсуждения», автор разделил на два блока. Первый блок описывает подходы к увеличению фотостабильности флуоресцентного белка путем модификации внешних условий, а именно изменения состава клеточной среды.

В ходе исследования Мамонтова изучила влияние таких внешних условий, как pH-среды, плотность роста клеток, концентрация сыворотки. Оказалось, что при повышении плотности роста клеток и концентрации сыворотки растет и фотостабильность». По этому разделу пишется, что «полученные результаты могут служить методической опорой для многих исследований для работающих с флуоресцентными белками на живых клетках.»

Второй блок работы посвящен изучению влияния изменений в структуре самого белка EGFP. Молекулярное моделирование, квантовые химические расчеты проведены совместно с лабораторией профессора Анны Крыловой. Это университет Южной Калифорнии США. И эти работы определили критические аминокислотные остатки в боковых цепях EGFP, являющиеся потенциальными акцепторами электрона».

Здесь мы видели и слышали подробное описание этого. «И Мамонтова провела поиск наиболее оптимальных замен и показала, что комбинирование мутаций по трем положениям привело к получению ряда весьма фотостабильных вариантов. Также был получен тройной мутант, который, помимо яркости, сравнимой с EGFP и высокой фотостабильности, характеризовался коротким временем жизни флуоресценции, что делает его весьма перспективной меткой для микроскопии FLIM.

Основные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых журналах, представлены в материалах конференций. Работа представляет собой законченное научное исследование. Соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, положению о присуждении ученых степеней. Указаны номера постановлений.

Анастасия Вячеславовна Мамонтова заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 «Молекулярная биология». Работа была заслушана на межлабораторной конференции Института биохимии Баха. Подписана: профессор, доктор биологических наук, профессор Левицкий, это завлаборатории структурной биохимии белка. И, соответственно, утверждено это - директор Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии РАН», член-корреспондент РАН, профессор Владимир Олегович Попов. Без замечаний.

Иванов Вадим Тихонович: Я понял, там нет замечаний, поэтому нет необходимости вступать в дискуссию с отзывом. Дальше Алексей Михайлович Богданов имеет право охарактеризовать диссертацию.

Богданов Алексей Михайлович: Да, с удовольствием охарактеризую. Анастасия - старожил, патриот, можно сказать, нашей лаборатории. Она пришла на 4 курсе делать курсовую работу. И с тех пор у нас курсовая, дипломная работа и сейчас диссертация. Все в прекрасном темпе и, мне кажется, с отличными результатами.

Настя училась и успешно окончила кафедру биохимии биофака МГУ. И здесь надо отметить такой момент, что, на мой взгляд, она является таким ярким представителем этой научной школы, научной школы этой кафедры. И традиции, которые на этой кафедре сформировались, мне кажется, замечательным образом ей передались.

Что я имею в виду? Просто замечательная строгость планирования и постановки экспериментов и образцовая культура документирования исследований. И это совершенно не преувеличение, потому что лабораторный журнал исследователя, вообще говоря, является документом. А в случае Анастасии это действительно так. Это проектный подход. Мы можем в любой момент обратиться к хорошо подписанному журналу, найти любой эксперимент и воспроизвести его. Это факт. Все люди, которые рядом с Настей работают, это знают и пользуются этим прекрасным свойством.

И как результат реализации этих замечательных кафедральных традиций на плодородной почве нашего института мы видим, по-моему, замечательные всходы. И Настя участник нескольких проектов. Содержание диссертационной работы отражает только часть ее работы. Я думаю, если даже она бы прямо сейчас прекратила заниматься наукой, еще несколько лет выходили бы статьи высокого уровня с ее фамилией в списке.

И, конечно, профессиональные качества – это важно. Но не менее важны личные качества,

которые в случае Анастасии Вячеславовны заслуживают самой высокой оценки. Это душа коллектива, человек очень комфортный в работе и для руководителей, и для коллег, студентов, аспирантов, которые работают рядом.

И сумма этих качеств формирует не только хорошего специалиста, но и просто замечательного человека, которому можно пожелать всяческих успехов. И резюмируя, в лице Анастасии Мамонтовой мы, мне кажется, видим блестящего профессионала, который, несомненно, квалификационно соответствует, я бы сказал, не только нашим отечественным, но и международным требованиям к ученым степеням. Прошу поддержать. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо! Учтем Ваше мнение. Тем не менее, слушаем дальше. Дальше у нас отзывы на автореферат?

Олейников Владимир Александрович:

Да, у нас есть, поступил один отзыв на автореферат. *(Зачитывает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).*

Полностью положительный, полностью без замечаний. Работу хвалят. И подписано доктором биологических наук, профессором, член-корреспондентом Российской академии наук, завкафедры биохимии биологического факультета МГУ, это Гусев Николай Борисович.

Иванов Вадим Тихонович: Собственно говоря, альма-матер, понятно. Теперь заслушиваются отзывы оппонентов. Главное. Дискуссия должна после них разгореться. Евгений Валерьевич Шеваль, Институт физико-химической биологии им. Белозерского, МГУ.

Шеваль Евгений Валерьевич:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается).

Глубокоуважаемые коллеги! Мне, на самом деле, было очень приятно читать эту работу. Она интересная. Она посвящена важной теме. Флуоресцентные белки – это, вообще, важно, а зеленые флуоресцентные белки – это один из основных инструментов, он будет таким оставаться. Потому что по спектральным характеристикам тех детекторов, которые мы сейчас имеем, работать все равно надо в зеленой части спектра.

Белки зеленые разные, но, действительно, до сих пор используются, в основном, EGFP. У него есть недостатки. В ряде приложений он уже срабатывает достаточно плохо. Характеристики, которых не хватает, как всегда, хотелось бы больше, выше, быстрее, и так далее... В работе сосредоточены на одной теме, на фотостабильности, и это очень хорошо. Это нужно, этого, действительно, не хватает.

Поэтому актуальность работы никакого сомнения не вызывает. Диссертация построена совершенно по традиционной схеме. За одним исключением. Список сокращений почему-то очутился в приложении в самом конце. И я, когда читал диссертацию, думал, что я, конечно, сделаю очень ехидное замечание по поводу того, что тут не помешал бы список сокращений. Он просто в неудачном месте. Это, пожалуй, единственный недостаток по оформлению.

По написанию текст сделан хорошо, весь материал представлен очень логично. И что приятно, нет ничего лишнего. Читать было легко.

Сама диссертация, работа опубликована в 4 статьях, представлена на конференциях. Здесь к работе никаких формальных претензий нет.

Здесь уже была высказана мысль, которая, на самом деле, очень правильная. Что хорошая работа не только дает ответы на те вопросы, которые формулируются в задачах, причем, часто формулируются задним числом, как мы знаем. Но хорошая работа ставит новые вопросы. В данном случае это ровно так.

Первая часть работы посвящена тому, как можно, добавляя какие-то факторы в среды или меняя условия культивирования, можно добиться увеличения фотостабильности зеленых флуоресцентных белков. Получен некий набор данных, который достаточно интересен и который можно потенциально использовать в работе тем, кто занимается прижизненными наблюдениями, в частности.

Интересны, на самом деле, очень аккуратно сделанные рассуждения, а почему это именно так, почему такие эффекты наблюдаются. И здесь мне наиболее интересными показались (может, потому что я все-таки клеточный биолог) рассуждения о том, что увеличение фотостабильности опосредуется, как сформулировано в диссертации, неким биохимическим процессом в клетках. И это завязывается на то, что изменение культивирования клеток, плотность роста, сыворотка тоже влияют на это. Это очень интересно.

Вообще, интересно было бы покопаться дальше. Это выходит за рамки диссертации, конечно. Но это крайне интригует. Конечно, здесь возникает еще один вопрос, вообще, не влияют ли эти изменения, которые приводились (добавление рутин, удаление каких-то ионов), на физиологию клетки, не будет ли это влиять на условия эксперимента. И это, мне кажется, было бы интересное исследование, совершенно самостоятельное, и в другой области, может быть, даже немножко. Но этот вопрос как-то очень остро сейчас для меня возник. Потому что, может быть, я никогда про это не думал, а это, вообще-то говоря, важно. Для меня важно, для моей работы.

Вторая часть работы посвящена созданию новых белков, которые (здесь сосредоточено точно на одном параметре) обладали бы повышенной фотостабильностью, желательнее, чтобы они при этом не потеряли в яркости. Получен набор мутантов. Здесь, на самом деле, у меня, пока я это читал, возник вопрос. Даже когда не столько читал, когда смотрел на таблицы. Каким образом выбирается, какой белок автор считает перспективными. Был выбран тройной мутант, про который только что было очень хорошо рассказано, который обладает повышенной фотостабильностью, но чуть-чуть пониженной яркостью.

Был там еще двойной мутант, который обладает несколько чуть-чуть повышенной фотостабильностью и чуть-чуть повышенной яркостью. И, на самом деле, какой из них выбрать, это интересный вопрос. А каким образом определять, какой из этих мутантов будет лучше, и в каких случаях будет лучше. Потому что вполне возможно, что в каких-то приложениях все-таки будет лучше двойной мутант, который не очень фотостабилен, но зато яркий. А может быть, надо его сразу забраковать, использовать только тройной.

Тоже, по-моему, это выходит за рамки работы. Но это такой очень интересный вопрос, который, по крайней мере, для меня возник при чтении диссертации.

Значимость работы и научная, и практическая не вызывает никаких сомнений. Полученные условия, которые подобраны, культивирования, и полученные мутанты могут найти практическое приложение. И те рассуждения, те новые данные про механизмы фотостабильности белков, каким образом увеличивать, бороться с фотообесцвечиванием, это, конечно, имеет фундаментальное значение и большой потенциал для дальнейшего развития. И некоторые наработанные методики тоже могут иметь практическое применение.

Таким образом, эта работа интересна, она ставит новые вопросы, она хорошая. И, несомненно, удовлетворяет всем требованиям, которые предъявляет ВАК.

Я обязан говорить про недостатки. На самом деле, мне не удалось обнаружить никаких существенных недостатков по науке. По науке в работе недостатков я не вижу. Может, я что-то не доглядел. Тем не менее, по оформлению я бы хотел сделать несколько замечаний.

Первое. В работе часть данных приведена без иллюстраций. Они описываются, но не иллюстрируются, используется формулировка «данные не показаны». В общем, сейчас в статьях это не поощряется. По крайней мере, у меня был неприятный опыт примерно год назад, когда мне пришлось очень большой материал, который я не хотел давать ни в статью, ни в supplementary, мне пришлось представлять рецензентам, показывать и очень подробно защищать.

В диссертации, мне кажется, это, вообще, не очень хороший способ. Хотя я понимаю, что, конечно, есть отрицательные результаты, которые вроде как и не результаты, они не так интересны, хочется взяться за самое интересное, самое новое и его развивать. Но, тем не

менее, наверное, это не самый удачный способ. Тем более, что часть этих отрицательных результатов потом попадают в той или иной форме в выводы и дальше звучат. Пожалуй, это такое самое серьезное замечание, которое касается именно оформления. Где-то еще можно придраться к выводам, где-то можно придраться к каким-то формулировкам. Есть опечатки. Но это все на уровне придирок, и, наверное, никак не сказывается на общем впечатлении от работы.

Итого, проделан очень внушительный объем работы. Исследование проведено на очень высоком, современном уровне. Дело не в том, что привлекаются разные методы. Дело в том, что оно такое получилось немножко междисциплинарное. В нем что-то найдут себе и какие-то люди, которые занимаются структурными вещами, биохимией, и она интересна оказалась мне как клеточному биологу. И это очень здорово.

Работа четкая, выводы четко сформулированы. Они полностью подтверждаются результатами, текстом.

Отдельно отмечу, что очень аккуратно по первой части используются данные, полученные коллабораторами. И в описании результатов диссертации и в автореферате это все очень аккуратно описано, и это очень хорошо и правильно.

Актуальность, новизна полученных данных не вызывает сомнений. Высокий методический уровень работы, теоретическая и практическая значимость.

Таким образом, разбор работы позволяет мне сделать вывод, что диссертационная работа Мамонтовой Анастасии Вячеславовны представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук соответствующими положениями. Ее автор, Анастасия Вячеславовна, вне сомнения заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «молекулярная биология». А если лирически, мне работа очень понравилась, это очень хорошая работа. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо Вам. Анастасия Вячеславовна, Вам решать, есть, с чем спорить с оппонентом, или соглашаться с его аргументами. Вы согласны, нет возражений? Принимается. Заслушиваем второго оппонента. Евгений Сергеевич Никитин, ведущий научный сотрудник института высшей нервной деятельности нейрофизиологии.

Никитин Евгений Сергеевич:

(Излагает отзыв, отзыв положительный, отзыв прилагается)..

Глубокоуважаемые коллеги, диссертационная работа Анастасии Вячеславовны Мамонтовой посвящена, как я считаю, очень важной проблеме – фотостабильности флуоресцентных меток при использовании флуоресцентных белков. И важность этой темы очень трудно переоценить, поскольку световая микроскопия является основным средством, которое используют клеточные биологи. Практически нет ни одной лаборатории, где бы не было микроскопа. И сама проблема фотовыцветания, фотообесцвечивания метки свойственна не только белкам. И, наверное, каждый, кто занимался флуоресцентной микроскопией, сталкивался с этим. Поэтому решение этого вопроса внесло бы просто громадный, неоценимый вклад в общезнаменательную науку. И особенно использование флуоресцентных белков, которое сейчас происходит массивно при имаджинге живых клеток, при витальном имаджинге, в последнее десятилетие благодаря их особым свойствам, возможности экспрессии специфических типов, подтипов клеток, генетического таргетинга в органеллы и отдельные компартменты клеток. Поэтому, с одной стороны, это позиционировалось как более фотостабильная метка, чем какие-то классические красители витальные. С другой стороны, оказалось, что они тоже подвержены недостатку.

Особенно для людей, которые занимаются, как я, функциональным имаджингом, это вносит значительные затруднения. Поскольку при исследовании каких-то изменений флуоресценции от времени накладывает дополнительно - фотообесцвечивание, которое может быть нелинейным, - дополнительные трудности. И когда можно, например, сравнить какие-то измерения, проведенные оптическими методами, с другими методами,

как, например, изменение мембранного потенциала с помощью зондов, чувствительных к нему, с электрическими измерениями, оказывается, что из электрических измерений можно получить очень много числовых параметров, хотя они не такие удобные, не дают картины по всему этому полю зрения, как оптические методы. А из оптических методов получаются только какие-то совершенно грубые измерения. Можно имплектировать только какие-то очень большие изменения, которые происходят с мембранным потенциалом. И хотелось бы, конечно, чтобы эти методы была возможность улучшить. Автор исследует фотостабильность путем изучения окислительной фотоконверсии, которая, как они полагают, лежит в основе фотообесцвечивания данных конкретных флуоресцентных белков. Рассматриваются как окружение и условия культивирования клеточных культур, так и собственные свойства этих зондов, дизайн белка. В первой части исследуется влияние разных сред и антиоксиданта рутина. Эти данные имеют ограниченное значение, поскольку там трудно менять среды и достигать высоких концентраций. Кроме того, это, наверное, имеет ограниченное применение только для этих конкретных клеточных культур, даже не для всех.

Во второй части исследуется, собственно, как влияет структура белка на фотостабильность. Исследование второй части имеет более широкий impact. Но, тем не менее, то, что соискатель рассматривает и влияние среды, внешних условий и, собственно, структуры, добавляет большой плюс в фундаментальность исследования. То, что были рассмотрены многие аспекты проблемы.

В ходе работы были получены как более фотостабильные мутанты, так мутант интересный с укороченным временем жизни, который мог бы найти применение в микроскопии FLIM. Поскольку он будет легче отличим.

По структуре диссертации, по тексту замечаний особых нет. Работа написана хорошим языком. Данные представлены хорошо и полно. Есть ловушка, в которую попадают молодые исследователи. Работы нужно писать не совсем тем языком, на котором говорят в лаборатории. Но соискатель эти ловушки по тексту старательно избегает. Есть отдельные жаргонизмы, но они не повторяются по тексту. Скорее, какие-то описки и трудности перевода с английских новых терминов.

Есть одно пожелание. Скорее, это дело вкуса. Но, возможно, если добавить к столбикам-диаграммам разброс оригинальных данных, то во многих случаях они будут выглядеть красивее. И с этим уже, как автор с высокой публикационной активностью Вы можете столкнуться в требованиях рецензентов в некоторых журналах.

Работа, безусловно, соответствует требованиям ВАК, выполнена на высоком научном уровне. Имеются публикации в очень хороших зарубежных журналах. Есть вопросы только уточняющего общего характера.

Первый вопрос – почему на графиках приводятся данные до достижения половины времени, полувывцветания. На большинстве графиков. Есть ли данные для дальнейших измерений при выцветании больше, чем 50%. И имеют ли такие данные какое-нибудь значение. Может быть, такое, например, что после 50% еще что-то происходит, например, выходит флуоресценция на плато. Или же эти данные есть, но они не показаны. Почему на других графиках показываются измерения до более низких, чем 50%-ные значения выцветания.

И второй вопрос такой немного риторический к соискателю. Как считает соискатель, можно ли, в принципе, такими методами генетических манипуляций, изменения среды полностью решить проблему фотообесцвечивания? Вся эта работа направлена на то, чтобы повысить их фотостабильность. Но можно ли, вообще, достичь фотостабильных белков при каких-то условиях, фотообесцвечивание которых будет незначительным. Или же это какой-то фактор, который свойственен этому методу, и это фотообесцвечивание будет всегда, его невозможно будет полностью победить.

Недочеты, если есть, какие-то мелкие по стилистике, оформлению, ни в коем случае не умаляют проделанной работы, ее качества. Диссертант заслуживает, по моему мнению, присуждения. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Вывод понятен. Анастасия Вячеславовна, были ли вопросы понятны? Ваши ответы.

Мамонтова Анастасия Вячеславовна: Спасибо, Евгений Сергеевич. Я согласна со всеми замечаниями. По поводу первого вопроса, почему представлены данные в большинстве случаев только до половины, по времени полуобесцвечивания. Мы обычно снимали, естественно, практически до конца, то есть, до тех пор, пока белок не уходил на уровень примерно фона. Но, однако при приближении значений уже близко к фоновым, данные сильно теряют в качестве, начинаются уже скачки, которые невозможно оценивать адекватно.

То, что кое-где представлены до 50%, а где-то чуть дальше – это, скорее, наш недочет. Потому что, на самом деле, просто надо было дорисовать и показывать примерно везде одинаковые. Это да, я принимаю это замечание, спасибо большое.

В случае второго вопроса, возможно ли до конца решить проблему фотообесцвечивания, это, действительно, риторический вопрос. Очень многие исследователи над этим бьются, не только мы. Есть определенные успехи. Эта область довольно серьезно развивается. Но, однако, возможно ли решить совсем проблему фотообесцвечивания, честно говоря, я не очень в это верю. Потому что все-таки мы не можем какие-то законы физики побороть. Они все-таки есть. То есть, нужно полностью заблокировать всякие безызлучательные процессы в белках, что довольно сложно, и современными методами, которые сейчас существуют, это пока не представляется возможным.

Но я надеюсь, что, может, в будущем мы как-то приблизимся к куда более значительным результатам, чем есть сейчас. Спасибо.

Иванов Вадим Тихонович: Все у Вас, да? Спасибо. У нас открыта дорога к общей дискуссии. Кто хотел бы высказаться по поводу голосования? Прошу.

Патрушев Лев Иванович: Я буквально два слова, дорогие коллеги. Насколько уважаемому оппоненту было приятно читать диссертацию, настолько мне приятно было ее слушать. Особенно ее вторую часть. По-моему, эта диссертация включает в себе элементы классики. Поскольку прекрасно иллюстрирует те возможности рационального дизайна белковой инженерии, которые были нам здесь продемонстрированы. Это просто поразительно. Замена одного аминокислотного остатка приводит к таким колоссальным, поразительным эффектам. Замена трех аминокислотных остатков - то же самое.

Естественно, диссертант должен прекрасно разбираться в биофизике этих процессов для того, чтобы нанести удар в нужную точку. Поэтому мои поздравления диссертанту. Чрезвычайное впечатление. И я постараюсь включить в свои лекции по белковой инженерии с Вашего разрешения некоторые Ваши результаты. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо! Есть еще? Ваш совет по поводу голосования очевиден. Кто-нибудь еще хотел бы поделиться впечатлениями? Ситуация ясная. Поэтому я даю слово диссертанту для заключительного слова.

Мамонтова Анастасия Вячеславовна: Я хочу сказать большое спасибо всем присутствующим, большое спасибо совету, большое спасибо моим оппонентам, ведущей организации за замечания, за советы. Конечно, хочу сказать большое спасибо своему руководителю Богданову Алексею Михайловичу за то, что он всегда был готов мне помочь, объяснить, в частности, очень многому меня научил. С ним было очень замечательно работать.

Конечно, большое спасибо нашему заведующему лаборатории Лукьянову Константину Анатольевичу тоже за своевременные гайды, вообще, за поддержку. Конечно, всем сотрудникам лаборатории. В частности, хочу особо большое спасибо сказать Наталье Владимировне, которая успешно защитилась, за помощь со сбором документов для диссертации.

И, в принципе, еще раз поблагодарить своего научного руководителя за помощь в этом же. Спасибо большое всем! Без вас без всех диссертация была бы не совсем возможна или с очень большими сложностями. Спасибо!

Иванов Вадим Тихонович: Спасибо! Итак, мы фактически готовы к голосованию. У нас выбрана счетная комиссия. Проведены все необходимые процедуры. Перед тем, как перейти к голосованию, я на всякий случай проверю, есть ли замечания по поводу проекта заключения по данной работе, по данной диссертации? Есть, кажется, замечания. Прошу.

Лебедев Юрий Борисович: Замечательная, по-моему, работа. Я три шероховатости в заключении обнаружил. На 3-ей странице в отзывах официальных оппонентов, я читаю «вывод 5 не совсем корректно сформулирован». Я не услышал в отзыве оппонента Евгения Валерьевича Шевалья этого замечания, не увидел в некорректности представленных выводов. Мне кажется, это излишнее добавление к заключению диссовета.

Иванов Вадим Тихонович: Если оппонент согласен с тем, чтобы его замечания не отвечало в выводе, то...

Лебедев Юрий Борисович: Вопрос о корректности формулировки выводов – это, извините, некоторая провокация.

Иванов Вадим Тихонович: Может сложиться неправильное впечатление.

Лебедев Юрий Борисович: Естественно. Оснований для такого замечания я не увидел и не услышал.

Иванов Вадим Тихонович: Но, тем не менее, диссертант согласился с этим замечанием.

Лебедев Юрий Борисович: Ну хорошо. В выступлении официального оппонента это замечание произнесено не было.

Иванов Вадим Тихонович: Может быть, есть в письменной рецензии. Евгений Валерьевич, согласны убрать из заключения?

Шеваль Евгений Валерьевич: Да. Там еще и моя ошибка, я перепутал 5-й и 6-й вывод, извините. Когда писал, я не то, чтобы все списывал с автореферата. Там, на самом деле, немножко некая неаккуратность. Такое замечание, чтобы...

Лебедев Юрий Борисович: Формулировка корректности...

Шеваль Евгений Валерьевич: Формулировка – это да, можно до бесконечности спорить.

Лебедев Юрий Борисович: Конечно.

Иванов Вадим Тихонович: Хорошо. Это Ваше первое замечание.

Лебедев Юрий Борисович: Второе – 5-я страница. Общая характеристика работы, по мнению совета, последний пункт – «Введены новые стандарты в условия культивирования». Мне кажется, работа настолько хороша как молекулярно-биологическая, что введение стандартов по ГОСТ-у или по ТУ... Может, просто убрать этот пункт? Он не добавляет ничего существенного. «Общая характеристика», перед «теоретической значимостью».

Иванов Вадим Тихонович: Единый мировой стандарт... Если с убиранием этого пункта согласны автор либо руководитель, то, я считаю, мы можем это сделать. Просто излишне.

Лебедев Юрий Борисович: Конечно. Формулировка биотехнологическая, а не молекулярно-биологическая.

Иванов Вадим Тихонович: Что скажет диссертант и руководитель.

Богданов Алексей Михайлович: Не возражаю.

Иванов Вадим Тихонович: Не возражаете. Ничего не теряем при этом. И второе замечание.

Лебедев Юрий Борисович: Самое последнее. Переход с 5-й страницы на 6-ю.

Иванов Вадим Тихонович: Новый белок.

Лебедев Юрий Борисович: В выводах этот мутант, эта модификация названа «перспективной». Формулировка «перспективной меткой для FLIMa» мне кажется более правильной по сравнению с тем, что написано в заключении.

Иванов Вадим Тихонович: Удачной.

Лебедев Юрий Борисович: Да.

Иванов Вадим Тихонович: В общем, удачной – да, это не очень научный термин. Термин заменили «удачный» на «перспективный». Я думаю, автор возражать не будет.

