ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.037.01,

созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), по диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук

аттестационное дело № _____

решение Диссертационного совета от 11.11.2026 № 29

О присуждении **Василевскому Александру Александровичу**, гражданину РФ, ученой степени доктора химических наук

Диссертация «Токсины паукообразных: многообразие, фундаментальные и прикладные аспекты» по специальности 1.4.9 – «Биоорганическая химия» принята к защите 24.06.2026 (протокол заседания № 16) Диссертационным советом 24.1.037.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), почтовый адрес: 117997, г. Москва, вн. тер. г. муниципальный округ Коньково, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 1, действующим на основании приказов Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г. и № 561 от 03.06.2021 г.

Соискатель Василевский Александр Александрович, 24 декабря 1982 года рождения. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата химических наук «Цитолитические и антимикробные пептиды из яда паука *Lachesana tarabaevi*» защитил в 2008 году в Диссертационном совете, созданном на базе ГНЦ ИБХ РАН (диплом кандидата химических наук ДКН № 076779). В настоящее время работает главным научным сотрудником лаборатории молекулярных инструментов для нейробиологии ГНЦ ИБХ РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных инструментов для нейробиологии ГНЦ ИБХ РАН.

Официальные оппоненты:

1. Островский Михаил Аркадьевич, д.б.н., академик РАН, заведующий лабораторией физико-химических основ рецепции Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук;

2. Кочетков Сергей Николаевич, д.х.н., академик РАН, заведующий лабораторией молекулярных основ действия физиологически активных соединений Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук;

3. Кузнецов Никита Александрович, д.х.н., член-корр. РАН, заведующий лабораторией генетических технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук —

дали ***положительные*** отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН, г. Санкт-Петербург) в своем ***положительном*** отзыве, подписанном Остроумовой Ольгой Сергеевной, д.б.н., доцентом, главным научным сотрудником с возложением обязанностей заведующей лабораторией моделирования мембран и ионных каналов, заместителем директора по научной работе, и утвержденном исполняющим обязанности директора Томилиным Алексеем Николаевичем, д.б.н., членом-корреспондентом РАН, профессором, указала, что диссертационная работа Василевского Александра Александровича «Токсины паукообразных: многообразие, фундаментальные и прикладные аспекты» является оригинальным научным исследованием и по своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости соответствует всем критериям (в том числе п. 9), установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 со всеми изменениями Постановлений Правительства РФ), а сам диссертант заслуживает присвоения искомой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – «Биоорганическая химия».

Соискатель имеет 105 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 80 работ, из них 77 работ общим объемом 55 печ. л. - в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень публикаций, рекомендованных Минобрнауки России для опубликования результатов диссертаций. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Наиболее значительные научные работы по теме, в которые А.А. Василевский внес основной либо существенный вклад:

1. Grishin E.V., Savchenko G.A., **Vassilevski A.A.**, Korolkova Y.V., Boychuk Y.A., Viatchenko-Karpinski V.Y., Nadezhdin K.D., Arseniev A.S., Pluzhnikov K.A., Kulyk V.B., Voitenko N.V., Krishtal O.O. (2010) Novel peptide from spider venom inhibits P2X3 receptors and inflammatory pain. Ann. Neurol. **67**, 680-683. doi: 10.1002/ana.21949. IF = 7,7. Q1
2. Billen B., **Vassilevski A.**, Nikolsky A., Debaveye S., Tytgat J., Grishin E. (2010) Unique bell-shaped voltage-dependent modulation of Na+ channel gating by novel insect-selective toxins from the spider Agelena orientalis. J. Biol. Chem. **285**, 18545-18554. doi: 10.1074/jbc.M110.125211. IF = 3,9. Q2
3. **Vassilevski A.A.**, Fedorova I.M., Maleeva E.E., Korolkova Y.V., Efimova S.S., Samsonova O.V., Schagina L.V., Feofanov A.V., Magazanik L.G., Grishin E.V. (2010) Novel class of spider toxin: Active principle from the yellow sac spider Cheiracanthium punctorium venom

is a unique two-domain polypeptide. J. Biol. Chem. **285**, 32293-32302. doi: 10.1074/jbc.M110.104265. IF = 3,9. Q2
4. Kuzmenkov A.I., Fedorova I.M., **Vassilevski A.A.**, Grishin E.V. (2013) Cysteine-rich toxins from Lachesana tarabaevi spider venom with amphiphilic C-terminal segments. Biochim. Biophys. Acta Biomembr. 1828, 724-731. doi: 10.1016/j.bbamem.2012.10.014. IF = 2,5. Q3
5. Chugunov A.O., Koromyslova A.D., Berkut A.A., Peigneur S., Tytgat J., Polyansky A.A., Pentkovsky V.M., **Vassilevski A.A.**, Grishin E.V., Efremov R.G. (2013) Modular organization of α-toxins from scorpion venom mirrors domain structure of their targets, sodium channels. J. Biol. Chem. **288**, 19014-19027. doi: 10.1074/jbc.M112.431650. IF = 3,9. Q2
6. **Vassilevski A.A.**, Sachkova M.Y., Ignatova A.A., Kozlov S.A., Feofanov A.V., Grishin E.V. (2013) Spider toxins comprising disulfide-rich and linear amphipathic domains: A new class of molecules identified in the lynx spider Oxyopes takobius. FEBS J. **280**, 6247-6261. doi: 10.1111/febs.12547. IF = 4,2. Q2
7. Berkut A.A., Usmanova D.R., Peigneur S., Oparin P.B., Mineev K.S., Odintsova T.I., Tytgat J., Arseniev A.S., Grishin E.V., **Vassilevski A.A.** (2014) Structural similarity between defense peptide from wheat and scorpion neurotoxin permits rational functional design. J. Biol. Chem. **289**, 14331-14340. doi: 10.1074/jbc.M113.530477. IF = 3,9. Q2
8. Berkut A.A., Peigneur S., Myshkin M.Y., Paramonov A.S., Lyukmanova E.N., Arseniev A.S., Grishin E.V., Tytgat J., Shenkarev Z.O., **Vassilevski A.A.** (2015) Structure of membrane-active toxin from crab spider Heriaeus melloteei suggests parallel evolution of sodium channel gating modifiers in Araneomorphae and Mygalomorphae. J. Biol. Chem. **290**, 492-504. doi: 10.1074/jbc.M114.595678. IF = 3,9. Q2
9. Kuzmenkov A.I., **Vassilevski A.A.**, Kudryashova K.S., Nekrasova O.V., Peigneur S., Tytgat J., Feofanov A.V., Kirpichnikov M.P., Grishin E.V. (2015) Variability of potassium channel blockers in Mesobuthus eupeus scorpion venom with focus on Kv1.1: an integrated transcriptomic and proteomic study. J. Biol. Chem. **290**, 12195-12209. doi: 10.1074/jbc.M115.637611. IF = 3,9. Q2
10. Kuzmenkov A.I., Sachkova M.Y., Kovalchuk S.I., Grishin E.V., **Vassilevski A.A.** (2016). Lachesana tarabaevi, an expert in membrane-active toxins. Biochem. J. **473**, 2495-2506. doi: 10.1042/BCJ20160436. IF = 4,3. Q2
11. Kuzmenkov A.I., Nekrasova O.V., Kudryashova K.S., Peigneur S., Tytgat J., Stepanov A.V., Kirpichnikov M.P., Grishin E.V., Feofanov A.V., **Vassilevski A.A.** (2016). Fluorescent protein-scorpion toxin chimera is a convenient molecular tool for studies of potassium channels. Sci. Rep. **6**, 33314. doi: 10.1038/srep33314. IF = 3,9. Q1
12. Oparin P.B., Nadezhdin K.D., Berkut A.A., Arseniev A.S., Grishin E.V., **Vassilevski A.A.** (2016). Structure of purotoxin-2 from wolf spider: modular design and membrane-assisted mode of action in arachnid toxins. Biochem. J. **473**, 3113-3126. doi: 10.1042/BCJ20160573. IF = 4,3. Q2
13. Nadezhdin K.D., Romanovskaia D.D., Sachkova M.Y., Oparin P.B., Kovalchuk S.I., Grishin E.V., Arseniev A.S., **Vassilevski A.A.** (2017) Modular toxin from the lynx spider Oxyopes takobius: Structure of spiderine domains in solution and membrane-mimicking environment. Protein Sci. **26**, 611-616. doi: 10.1002/pro.3101. IF = 5,2. Q1
14. Kuldyushev N.A., Berkut A.A., Peigneur S., Tytgat J., Grishin E.V., **Vassilevski A.A.** (2017) Design of sodium channel ligands with defined selectivity — a case study in scorpion alpha-toxins. FEBS Lett. **591**, 3414-3420. doi: 10.1002/1873-3468.12839. IF = 3,0. Q2
15. Männikkö R., Shenkarev Z.O., Thor M.G., Berkut A.A., Myshkin M.Y., Paramonov A.S., Kulbatskii D.S., Kuzmin D.A., Sampedro Castañeda M., King L., Wilson E.R., Lyukmanova E.N., Kirpichnikov M.P., Schorge S., Bosmans F., Hanna M.G., Kullmann D.M., **Vassilevski A.A.** (2018) Spider toxin inhibits gating pore currents underlying periodic paralysis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **115**, 4495-4500. doi: 10.1073/pnas.1720185115. IF = 9,1. Q1
16. Kuldyushev N.A., Mineev K.S., Berkut A.A., Peigneur S., Arseniev A.S., Tytgat J., Grishin E.V., **Vassilevski A.A.** (2018) Refined structure of BeM9 reveals arginine hand, an

overlooked structural motif in scorpion toxins affecting sodium channels. Proteins **86**, 1117-1122. doi: 10.1002/prot.25583. IF = 2,8. Q2
17. Twomey E.C., Yelshanskaya M.V., **Vassilevski A.A.**, Sobolevsky A.I. (2018) Mechanisms of channel block in calcium-permeable AMPA receptors. Neuron **99**, 956-968.e4. doi: 10.1016/j.neuron.2018.07.027. IF = 15,0. Q1
18. Berkut A.A., Chugunov A.O., Mineev K.S., Peigneur S., Tabakmakher V.M., Krylov N.A., Oparin P.B., Lihonosova A.F., Novikova E.V., Arseniev A.S., Grishin E.V., Tytgat J., Efremov R.G., **Vassilevski A.A.** (2019) Protein surface topography as a tool to enhance the selective activity of a potassium channel blocker. J. Biol. Chem. **294**, 18349-18359. doi: 10.1074/jbc.RA119.010494. IF = 3,9. Q2
19. Gigolaev A.M., Kuzmenkov A.I., Peigneur S., Tabakmakher V.M., Pinheiro-Junior E.L., Chugunov A.O., Efremov R.G., Tytgat J., **Vassilevski A.A.** (2020) Tuning scorpion toxin selectivity: switching from KV1.1 to KV1.3. Front. Pharmacol. **11**, 1010. doi: 10.3389/fphar.2020.01010. IF = 4,8. Q1
20. Mineev K.S., Kuzmenkov A.I., Arseniev A.S., **Vassilevski A.A.** (2021) Structure of MeuNaTxα-1 toxin from scorpion venom highlights the importance of the nest motif. Proteins **89**, 1055-1060. doi: 10.1002/prot.26074. IF = 2,8. Q2
21. Tabakmakher V.M., Gigolaev A.M., Peigneur S., Krylov N.A., Tytgat J., Chugunov A.O., **Vassilevski A.A.**, Efremov R.G. (2021) Potassium channel blocker crafted by α-hairpinin scaffold engineering. Biophys. J. **120**, 2471-2481. doi: 10.1016/j.bpj.2021.04.020. IF = 3,1. Q2
22. Gigolaev A.M., Lushpa V.A., Pinheiro-Junior E.L., Tabakmakher V.M., Peigneur S., Ignatova A.A., Feofanov A.V., Efremov R.G., Mineev K.S., Tytgat J., **Vassilevski A.A.** (2022) Artificial pore blocker acts specifically on voltage-gated potassium channel isoform KV1.6. J. Biol. Chem. **298**, 102467. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102467. IF = 3,9. Q2
23. Mineev K.S., Chernykh M.A., Motov V.V., Prudnikova D.A., Pavlenko D.M., Kuzmenkov A.I., Peigneur S., Tytgat J., **Vassilevski A.A.** (2023) A scorpion toxin affecting sodium channels shows double cis-trans isomerism. FEBS Lett. **597**, 2358-2368. doi: 10.1002/1873-3468.14705. IF = 3,0. Q2
24. Oparin P., Khokhlova O., Cherkashin A., Nadezhdin K., Palikov V., Palikova Y., Korolkova Y., Mosharova I., Rogachevskaja O., Baranov M., Shaidullova K., Ermakova E., Lushpa V., Bruter A., Deykin A., Ivanova E., Silaeva Y., Dyachenko I., Bocharov E., Sitdikova G., Andreev-Andrievskiy A., Poteryaev D., Shuster A., Murashev A., Kolesnikov S., Stepanenko V., Grishin E., **Vassilevski A.** (2025) Potent painkiller from spider venom antagonizes P2X3 receptors without dysgeusia. Mol. Ther. **33**, 771-785. doi: 10.1016/j.ymthe.2024.12.036. IF = 12,0. Q1
25. Nikolaev M., Gataulina E., Fedorova I., Baleeva N., Baranov M., **Vassilevski A.**, Tikhonov D. (2025) Optical control of calcium-permeable AMPA receptors by azobenzene-spermines. Br. J. Pharmacol. **182**, 5173-5191. doi: 10.1111/bph.70111. IF = 7,7. Q1

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв официального оппонента **Михаила Аркадьевича Островского**, д.б.н., академика РАН. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1) При всей комплексности проведенного исследования и внушительном объеме диссертации им не хватает анализа биологической функции, физиологической значимости изученных ядов и токсинов. Какова функция, каково значение каждой изученной группы токсинов в каждом конкретном случае? Они служат оружием нападения или средством защиты, являются главными или второстепенными, вспомогательными компонентами яда? Работа получилась очень, может быть,

чересчур, химической: токсины рассматриваются в соответствии с их строением или молекулярным механизмом действия, не хватает биологизма — рассмотрения собственно функции в природе, физиологической роли этих биомолекул в живых организмах.

2) Один из лейтмотивов Обзора литературы — токсины паукообразных как перспективные инсектициды (специальный раздел 1.19.1. Токсины паукообразных как инсектициды). Этой темы диссертант касается в Результатах и обсуждении лишь вскользь, при разборе агатоксинов и альфа-токсинов скорпионов. Видит ли он реальную перспективу этих токсинов как пестицидов? В чем их преимущества и недостатки в сравнении с известными аналогами? Быть может, отличается как раз их физиологический эффект?
3) Число и разнообразие обнаруженных, выделенных и исследованных А.А. Василевским токсинов не может не удивлять. При этом подчас выбрана мишень для анализа действия токсинов, не имеющая отношения к реальной ситуации в природе. Автору стоило бы в каждом случае пояснить свой выбор. К примеру, очень часто мишенью выступают белки человека, в то время как большинство токсинов паукообразных нацелены на насекомых. Еще более показателен случай пуриноцепторов (раздел 3.9. Пуротоксины — компоненты яда пауков, воздействующие на P2X рецепторы): у насекомых ведь нет даже гомологов этих белков.
4) Выбор мишени для изучения действия токсинов требует вдумчивого анализа. Например, почему именно потенциал-зависимым калиевым каналам, притом конкретному их семейству и, более того, конкретным подтипам отводится столько внимания (раздел 3.5. Токсины паукообразных, воздействующие на K^+ каналы)? Что известно об их физиологической функции и роли в качестве мишени токсинов? Аналогичные пояснения нужны и в других случаях: как выбраны определенные изоформы натриевых и кальциевых каналов (разделы 3.7. Токсины паукообразных, воздействующие на Na^+ каналы и 3.8. ω-Lsp-IA — уникальный модулятор Ca^{2+} каналов)?
5) Если в Обзоре литературы эволюции токсинов и состава ядов отводится специальный раздел (1.17), то в Результатах и обсуждении автор касается этой темы только в связи с так называемыми «модульными» токсинами (раздел 3.12). Почему так получилось? Ведь в соответствии с известной максимой Добржанского в биологии ничто не должно рассматриваться в отрыве от эволюции.
6) Несколько поверхностное отношение к физиологическим аспектам присутствует и при анализе главного проявления ядов и их компонентов — токсичности. В большинстве случаев говорится просто о «токсичности» или «смертности», иногда о

«паралитическом действии», однако почти нигде не сообщается о способе реализации токсичности или виде паралича, а ведь эти сведения важны для идентификации мишени токсинов.

7) Подробности физиологического действия обсуждаются в диссертации, пожалуй, лишь дважды: при описании токсина скорпиона, сенситизирующего ноцицепторы (раздел 3.7.5. Воздействие α-NaTx на внутриклеточные сигнальные каскады), а также пептидов из яда пауков, ингибирующих пуриноцепторы. Однако и в этих случаях автор ограничивается беглым описанием некоторых симптомов отравления или результатов болевых тестов. Вместе с тем, в обоих случаях именно физиологический статус животного, которому ввели изучаемый препарат, служит важнейшим индикатором механизма действия и специфичности токсина.
8) При описании активности токсинов на ионные каналы почти везде приводятся значения IC_{50} или EC_{50}, а вот коэффициент Хилла упоминается не всегда. Однако наклон кривой «доза–ответ» или кооперативность действия лигандов на белки — важный параметр, указывающий на молекулярный механизм действия токсинов, их способ взаимодействия с мишенью. Интересно было бы узнать мнение диссертанта относительно различий коэффициента Хилла для сходных соединений, воздействующих на одну мишень, или одного и того же соединения, воздействующего на близкие мишени (например, см. рисунок 59Б).
9) А.А. Василевским разработан внушительный список селективных молекулярных инструментов — лигандов определенных подтипов ионных каналов. Во многих случаях не только описана активность этих соединений, изучена их селективность, но и проиллюстрированы способы использования. Однако и здесь немного не хватает биологического (физиологического) взгляда. Взять хотя бы пример фотопереключаемых блокаторов глутаматных рецепторов (раздел 3.13. Ацилполиамины — инструменты изучения глутаматных рецепторов). Автор элегантно показывает путь, приведший к их созданию — от изучения структуры природных токсинов еще Е.В. Гришиным, через анализ пространственной структуры их комплекса с рецептором — к дизайну светоуправляемых искусственных соединений. В работе приведены записи токов, полученные на препаратах среза мозга крыс (рисунок 129Б, В). Однако почти не раскрывается, в каких именно исследованиях изобретенные фотопереключатели могут быть полезны. Какие именно новые или недостаточно изученные функции этих важнейших для физиологии центральной нервной системы белков мы можем исследовать? Аналогичные вопросы касаются изобретенных автором химер токсинов с флуоресцентными белками (раздел 3.10): где

именно их стоит использовать, для изучения каких физиологических процессов с участием соответствующих ионных каналов?

10) Одно из неоспоримых достижений А.А. Василевского — демонстрация способности токсинов угнетать так называемые «омега-токи», протекающие через мутантные каналы, описанные у больных параличами (раздел 3.7.2. Токсин Hm-3 — основа для создания лекарства от периодического паралича). Вместе с тем применимость изученного токсина Hm-3 ведь существенно ограничена? Как автор видит дальнейший путь клинической разработки и видит ли перспективу этого направления вообще?
11) Наиболее любопытны открытые диссертантом пуротоксины, которые предлагается использовать для разработки нового поколения анальгетиков. Эти результаты опубликованы в самых престижных журналах. Насколько мне известно, разработкой лекарства занимается одна из самых профессиональных команд в России. А потому тем более интересно узнать, от каких именно болевых синдромов предполагается лечить с помощью пуротоксинов? Чем обусловлен выбор? Каковы сведения о (пато)физиологической роли пуриноцепторов в этих состояниях? Каковы ограничения использования их низкомолекулярных лигандов? Наконец, помимо клиники, где еще могут пригодиться пуротоксины?

2. Отзыв официального оппонента **Кочеткова Сергея Николаевича**, д.х.н., академика РАН. Отзыв положительный, замечаний не содержит.

3. Отзыв официального оппонента **Кузнецова Никиты Александровича**, д.х.н., члена-корреспондента РАН. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1) Анализ спектров кругового дихроизма для определения содержания элементов вторичной структуры (например, Таблицы 62, 67), включает как общепринятые элементы (α-Спираль, β-Структура, β-Изгиб), так и термин «Клубок», который, по-видимому, характеризует совокупность неструктурированных элементов. При этом сумма всех элементов вторичной структуры не всегда составляет 100%, а может варьироваться от 99% до 101%.
2) В тексте диссертации приведены методы получения и описаны способы очистки рекомбинантных вариантов пептидных токсинов, в том числе содержащих множественные дисульфидные связи. Однако, способы подтверждения структур, содержащих правильно сформированные дисульфидные связи в полученных препаратах, не описаны в полной мере.
3) Совокупный анализ известных токсинов, в том числе исследованных в данной работе, однозначно свидетельствует о комбинаторном типе формирования отдельных групп токсинов. Формирование таких комбинаторных библиотек в случае ацилполиаминов обеспечивается совокупностью действия участников ферментативного каскада синтеза

таких соединений, что в конечном итоге может обеспечить некоторое разнообразие получаемых продуктов синтеза. В этой связи возникает вопрос есть ли среди пептидных токсинов молекулы, которые синтезируются не на рибосоме, и таким образом могут включать существенно более разнообразные остатки далеко уходя от ограничения протеиногенных аминокислот.

4) Второй вопрос, связанный с этим же аспектом. В тексте диссертации описаны механизмы, приводящие к возникновению разнообразия пептидных генетически кодируемых токсинов. Однако, остается не полностью проясненным вопрос, - обнаруженное на сегодняшний день разнообразие пептидных токсинов «регулируется» лишь спонтанными эволюционными процессами формирования генов, кодирующих токсины, либо существуют примеры систем направленной перестройки данных генов (или их участков), или селективном сайт-направленном мутагенезе «вариативной» части данных генов. То есть существуют ли у паукообразных активные молекулярно-генетические пути, отвечающие за «рождение и смерть» генов новых токсинов? Ответ на этот вопрос могли бы дать данные, если такие существуют, о вариативности токсинов (или кодирующих их генов) в неродственных особях одного и того же вида, или изменениях в течение жизни одной и той же особи, а также при смене поколений. Можно предположить, что изменение состава яда, связанное с повышением эффективности его действия, как в течение жизни особи, так и при смене поколений может выступать механизмом адаптации и эволюционным градиентом развития пауков и скорпионов и поэтому эти вопросы представляют большой интерес, но не раскрыты в полной мере в тексте диссертации.
5) Формулировки выводов должны отражать суть полученного результата, а не действие, выполненное для его достижения. В связи с этим ряд выводов, например 1 (проведены детальные исследования), 2 (получено несколько десятков индивидуальных токсинов), 3 (получено несколько десятков рекомбинантных токсинов), таковыми не являются, а относятся к краткому изложению результатов работы.

4. Отзыв **ведущей организации ИНЦ РАН**. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1) В параграфе 1.10.1 на стр. 92 в конце 3 абзаца неполное предложение. Не удалось избежать профессионального сленга (например, использование слов «фарма», «движок»).
2) Глава 1.5 стр. 51 (первое предложение последнего абзаца) и параграф 1.9.2 стр. 79 (последнее предложение первого абзаца) – среди отрицательно заряженных групп фосфолипидов следовало бы упомянуть не только фосфорную кислоту.
3) Некоторые таблицы лучше бы читались в альбомном форматировании.

4) Одновременное использование сразу двух величин IC_{50} и EC_{50} для сравнения активности различных лигандов не всегда видится оправданным. Удобнее сравнивать только один параметр.
5) Было бы полезно представить информацию о статистической значимости различия эффектов между 0.5 и 2.5 нмоль пуротоксина на рисунке 98 и между PT6 и PT1 на рисунке 99.
6) Таблица 50 и другие, демонстрирующие результаты оценки антимикробной активности токсинов. Было бы полезно для сравнения представить данные, полученные при использовании известных антибиотиков. Это позволило бы сделать вывод о перспективах терапевтического использования токсинов в качестве антимикробных агентов.
7) Несмотря на активное обсуждение автором результатов ЯМР спектроскопии и криоЭМ, первичных данных, полученных этими методами, в диссертации практически не представлено.
8) Вывод о современных подходах к разработке противоядий в конце параграфа 1.2.1. Может ли поиск блокаторов пор, формируемых токсинами, служить эффективным подходом?
9) Могут ли низкомолекулярные непептидные компоненты яда быть модификаторами физических свойств липидного матрикса мембран, в которые реконструированы таргетные для этих токсинов каналы? Какова вероятность их взаимодействия с липидными мембранами, которую можно было бы оценить по коэффициенту распределения октанол-вода?
10) Как автор диссертации объясняет отсутствие доменной организации у бислоя из смеси ДОФХ и сфингомиелина до добавки Ltc2a, и не могут ли наблюдаемые после введения токсина изменения относится не к формируемым им дефектам, а к индукции фазового разделения, особенно с учетом того, что толщина бислоя в области «дефекта» равна 4 нм (соответствует толщине бислоя из ДОФХ), а вокруг дефекта – 8 мкм, что превышает толщину мембран как из ДОФХ, так и сфингомиелина в 2 раза. Несмотря на то, что этот вопрос касается возможной интерпретации конкретных литературных данных, он связан с более общим: может ли влияние токсина на фазовую сегрегацию в мембране (липидные домены – рафты) быть еще одним механизмом его действия, в частности, за счет регуляции функции ионных каналов при изменении «гидрофобного несоответствия»?
11) Может ли мембранное окружение способствовать восстановлению тиольных групп в полипептидных цепях токсинов? Нет ли необходимости учитывать этот фактор для токсинов, взаимодействующих с сайтами связывания, обращенными к липидам?

12) Как автору удалось получить гигантские одноламеллярные липосомы при обработке гидратированных липидных пленок ультразвуком с последующей экструзией? Обычно для получения гигантских везикул используют электроформацию. Какие данные подтверждают успешность предложенного автором подхода – получение липосом с диаметром более 1 мкм?
13) Для корректного применения парного t-критерия при малых выборках (n°<°50) требуется, чтобы разности были распределены нормально или близко к нормальному. Как проверяли гипотезу о нормальности распределения?
14) Моделирование комплексов α-KTx с K_v (3.6.1.1). Зачем ПОФЭ включен в состав мембраны? Насколько исключение этого липида повлияло бы на результат?
15) По токсину Hm-3. Как возможность взаимодействия с мембраной, продемонстрированная автором в экспериментах с липидными везикулами, связана с влиянием на Na_v (ингибированием как α-, так и ω-токов)? Может ли это обстоятельство иметь значение для селективности действия токсина, в частности, отличается ли липидное микроокружение различных изоформ Na_v? Насколько ингибирование α-токов ограничивает терапевтический потенциал Hm-3 при гипокалиемическом периодическом параличе? Возможно ли получить производные, селективные именно к ω-токам? Какой способ введения пептидного препарата предусматривает автор?
16) По пуротоксинам. Хотелось бы услышать предположения автора относительно природной мишени пуротоксинов у насекомых? Есть ли данные о наличии P2X-подобных рецепторов у членистоногих? Чем можно объяснить отсутствие дисгевзии у PT6?
17) По слитным конструктам FP-Tx. Почему химеры eGFP-OSK1 и RFP-AgTx-2 утратили активность на Kv1.2? Т.е. присоединение FP повлияло на селективность в отношении каналов, может ли изменение коэффициента распределения мембрана-раствор при связывании с водорастворимым белком частично объяснять этот эффект? Или это связано со стерическими ограничениями или с изменением конформации токсина? Как можно оптимизировать такие конструкции?
18) По мембраноактивным токсинам (3.11.1) – зачем автор использовал именно гигантские липосомы, и почему для сравнения с нейтральным ДОФХ была выбрана смесь ДОФГ с ДОФЭ (липидом, склонным к формированию инвертированных гексагональных фаз)? Следует обратить внимание на то, что изменение трансмембранного распределения латерального давления за счет варьирования параметра упаковки липидов может оказывать значимое влияние на мембранную активность АМП. Сама по себе демонстрация возможности связывания с мембранами не указывает на причины

гибели бактериальных клеток или гемолиза эритроцитов. Каковы молекулярные механизмы мембранной активности?

19) По антимикоплазменной и антихламидийной активности. Насколько результаты, полученные *in vitro*, могут быть транслированы *in vivo*? Какова будет стоимость таких препаратов? Не токсичны ли предложенные генные конструкции для клеток-хозяев? Есть ли основания предполагать высокую селективность действия мембраноактиных токсинов в отношении мембран клеток внутриклеточного паразита и внутриклеточных мембран/ плазмалеммы хозяина? Можно ли выделить какие-либо детерминанты, помимо анионных липидов, присутствие которых не является исключительным для микоплазм и хламидий и характерно также для внутреннего листка плазмалеммы, поздних эндосом и лизосом, а также митохондрий.
20) В чем заключается механизм синергии между модулями CIT 1a? Как это «работает»?

5. Отзыв на автореферат **Айвазян Наиры Мартыновны**, д.б.н., профессора, директора Института физиологии им. акад. Л.А. Орбели (г. Ереван, Армения). Отзыв положительный, замечаний не содержит.

6. Отзыв на автореферат **Зайцева Алексея Васильевича**, д.б.н., заместителя директора по науке Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (г. Санкт-Петербург). Отзыв положительный, замечаний не содержит.

7. Отзыв на автореферат **Колба Вячеслава Адамовича**, д.б.н., директора Института белка РАН (г. Пущино). Отзыв положительный, замечаний не содержит.

8. Отзыв на автореферат **Семьянова Алексея Васильевича**, д.б.н., члена-корреспондента РАН, директора Нейронаучного центра Цзясинского университета (г. Цзясин, Китай). Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1) Селективность ряда полученных лигандов установлена преимущественно на рекомбинантных каналах. Вместе с тем автор справедливо отмечает важность гетеромерных калиевых каналов. Было бы полезно яснее обозначить, в какой степени профили селективности сохраняются в нативных клетках и какие ограничения необходимо учитывать при использовании этих соединений для определения субъединичного состава каналов.
2) При обсуждении Hm-3 автор указывает на ограничения его клинического применения. Существенно, что подавление ω-токов требует более высоких концентраций, чем ингибирование основного натриевого тока. Желательно подробнее сформулировать, какие структурные и функциональные свойства необходимо изменить для разделения этих эффектов и получения соединений, избирательно подавляющих патологическую проводимость.

3) Для пуротоксинов представлены убедительные данные о рецепторной селективности и антиноцицептивной активности. Вместе с тем изложенные в заключении сведения об их стабильности, продолжительности действия и низкой токсичности выиграли бы от более подробного количественного представления в автореферате. Это позволило бы точнее оценить степень готовности соединений к дальнейшей разработке.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными работами и достижениями в области биоорганической химии и молекулярной нейробиологии. Официальный оппонент М.А. Островский — признанный лидер в исследованиях из области молекулярной физиологии. Официальные оппоненты С.Н. Кочетков и Н.А. Кузнецов — ведущие специалисты мирового уровня в области биоорганической химии. В ведущей организации ведутся исследования в области Высокая квалификация, большой опыт исследовательской работы оппонентов и представителей ведущей организации позволяет им объективно оценить степень научной новизны результатов диссертационной работы, ее теоретическую и практическую значимость.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработаны принципиально новые молекулярные инструменты для исследования нейрорецепторов и ионных каналов. В частности, им получены химеры нейротоксинов, селективно связывающихся с подтипами калиевых каналов и ацетилхолиновых рецепторов, и флуоресцентных белков. Эти конструкты могут быть использованы для картирования распределения нейрорецепторов и ионных каналов в клетках, тканях и органах, а также в скрининговых системах для поиска новых лигандов указанных белков. Коллективом под руководством соискателя разработана база данных Kalium, вобравшая в себя информацию обо всех известных полипептидных лигандах калиевых каналов и широко используемая для выявления качественно новых закономерностей, касающихся структуры и функции этих соединений. А.А. Василевским предложена оригинальная научная гипотеза модульного строения α-токсинов скорпионов, воздействующих на натриевые каналы. Им убедительно продемонстрирована плодотворность такой гипотезы: рациональная манипуляция структурой «модуля специфичности» позволила получить производные α-токсина с селективным действием на выбранные каналы-мишени. Соискателем доказана перспективность использования концепции природных ядов как комбинаторной библиотеки токсинов. В частности, на основе этой концепции им получен усовершенствованный лиганд пуриновых рецепторов для практического внедрения. А.А. Василевским введены новые термины, получившие распространение в научной литературе, среди них: «α-гарпинины» — для обозначения открытого им семейства защитных пептидов растений; «β/δ-агатоксины» — для обозначения открытой им группы токсинов пауков двойного действия (подобное

обозначение через дробь теперь используется широко); «аргининовая рука» — наименование особого случая белкового мотива «ниши».

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что разработаны новые подходы структурно-функционального анализа токсинов скорпионов, воздействующих на потенциал-зависимые калиевые и натриевые каналы, а также рациональной модификации их свойств. А.А. Василевским показано, какие структурные особенности лигандов калиевых и натриевых каналов определяют специфичность их действия, обуславливают высокоаффинное связывание с белками-мишенями. В работе изучена аминокислотная последовательность нескольких сотен токсинов паукообразных, пространственная структура более десяти пептидов, что дает общее представление о структурном многообразии этих природных соединений. Изучена структура генов и белков-предшественников токсинов, что раскрывает механизм их биосинтеза. А.А. Василевским открыты новые семейства природных пептидов и белков: CpTx, β/δ-агатоксины, α-гарпинины, латартоксины, пуротоксины, оксиопинины, спайдерины. Им открыты т.н. «модульные» токсины, предложены механизмы их эволюции. Это существенно расширило наши представления о многообразии токсинов и, по сути, определило современный уровень токсинологии. Соискателем также открыты новые белковые мотивы, в частности, в структуре α-токсинов скорпионов обнаружены мотивы «аргининовой руки» и «ниши» — это позволило по-новому взглянуть на структурно-функциональные отношения в важнейших лигандах ионных каналов. Соискателем впервые результативно использован новый подход «белковой топографии», в результате чего получен высокоаффинный лиганд выбранной изоформы калиевых каналов. В работе раскрыты новые свойства давно известных групп токсинов. В частности, показано, что α-токсины скорпионов способны активировать внутриклеточные сигнальные каскады в нейронах. А.А. Василевским созданы химерные конструкты на основе нейротоксинов и флуоресцентных белков, позволяющие изучить распределение и динамику экспрессии ионных каналов и нейрорецепторов в различных органах и тканях.

Значение полученных соискателем результатов исследования **для практики** подтверждается тем, что получены селективные и высокоаффинные лиганды нейрорецепторов и ионных каналов, включая калиевые каналы K_v1.1–1.3 и 1.6, натриевые каналы млекопитающих Na_v1.4, натриевые каналы насекомых $DmNa_v1$ и $BgNa_v1$, кальциевые каналы Ca_v2.1, кальций-проницаемые AMPA-рецепторы, а также пуриновые рецепторы P2X3. Эти соединения представляют интерес для управления функцией указанных белков, в медицине — для разработки лекарственных препаратов, а также в сельском хозяйстве — для получения безопасных инсектицидов. Кроме того, соискателем проведена модернизация подходов к поиску кандидатов в лекарственные препараты. Им

убедительно доказана возможность использования простейшей укладки α-гарпининов в скаффолд-инженерии. Блокаторы K_v1.1, 1.2 и 1.6, полученные А.А. Василевским, могут найти применение для создания лекарств от атаксии и эпилепсии. Блокаторы K_v1.3 в настоящее время разрабатываются для терапии различных аутоиммунных заболеваний. Селективный модулятор Ca_v2.1 может быть востребован в случае атаксии, мигрени, хронической боли и эпилепсии. А.А. Василевским доказано, что т.н. «ω-токи» в мутантных Na_v, обнаруженных у пациентов с параличами, поддаются фармакологической коррекции. Открытые соискателем мембрано-активные пептиды могут стать новым поколением антибиотиков, в частности для контроля внутриклеточных паразитических бактерий. Наибольший интерес представляет открытое А.А. Василевским уникальное семейство пуротоксинов — селективных ингибиторов P2X3 рецепторов. В настоящее время российской компанией ведется фармацевтическая разработка средства от хронического кашля на основе пуротоксина-6.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что они получены общепринятым экспериментальным подходом с использованием известных методик. Для оценки достоверности результатов соискатель применял адекватные статистические критерии. Результаты исследования верифицируемы и могут быть воспроизведены независимо. Многие результаты уже подтверждены другими исследователями, о чем можно судить по спискам цитирования соответствующих публикаций.

Личный вклад соискателя состоит в участии на всех этапах процесса, непосредственном участии в получении исходных данных и научных экспериментах, личном участии в апробации результатов исследования, обработке и интерпретации экспериментальных данных, выполненных лично автором или при участии автора, подготовке основных публикаций по выполненной работе. Практически все данные получены автором диссертации лично, или при его непосредственном участии, или под его руководством. Личный вклад соискателя подтверждается списком публикаций и руководством диссертациями.

На основании вышеизложенного Диссертационный совет 24.1.037.01 заключает, что диссертационная работа Александра Александровича Василевского на тему «Токсины паукообразных: многообразие, фундаментальные и прикладные аспекты», представленная на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – «Биоорганическая химия», является законченным научно-квалификационным исследованием в области биоорганической химии, в результате которого получены принципиально новые данные о структурном и функциональном многообразии токсинов паукообразных, созданы новые молекулярные инструменты на их основе, а также получены уникальные по свойствам лиганды нейрорецепторов и ионных каналов, которые

представляют большую ценность для практического использования в фундаментальных исследованиях, для разработки новых лекарств и биоинсектицидов. По своему содержанию, актуальности, научной новизне, полноте описания и достоверности полученных результатов диссертационная работа А.А. Василевского полностью соответствует всем критериям (в том числе п. 9) «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 со всеми последующими изменениями Постановлений Правительства РФ), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы:

1. Что известно о генетических основах, позволяющих формировать комбинаторные библиотеки токсинов?
2. Как возникают и эволюционируют токсины?
3. Известны ли токсины, воздействующие на системы обратного захвата нейромедиаторов?
4. Как именно убивается жертва укуса ядом паукообразных?
5. В чем биологическое значение фотоконверсии блокаторов глутаматных рецепторов?
6. Известны ли ядовитые представители других отрядов паукообразных?
7. Проводятся ли работы в области токсинов, лигандов ионных каналов с использованием искусственного интеллекта?

Соискатель А.А. Василевский ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию:

1. В настоящее время укрепилось представление «один ген — один токсин», то есть библиотеки не результат каких-то специальных механизмов, а кодируются мультигенными семействами. Другие способы увеличения разнообразия (альтернативный сплайсинг, редактирование мРНК) вносят минорный вклад.
2. Токсины происходят из эндогенных пептидов, имеющих «нормальную» физиологическую функцию. К примеру, убедительно показано, что две группы токсинов скорпионов эволюционировали из дефензинов. Некоторые ядовитые животные используют ограниченное число токсинов широкого спектра действия, другие приобрели богатый арсенал более специфичных молекул.
3. Работы, сообщавшие о таких токсинах паукообразных, не подтвердились. Наши исследования указывают на возможность получения подобных соединений из яда.
4. Собственно летальными для человека оказываются лишь немногие токсины. В большинстве случаев это активаторы натриевых каналов. Смерть наступает от паралича дыхательной мускулатуры, легочного отека или остановки сердца.
5. Фотопереключаемыми являются искусственные соединения, синтезированные на основе природных токсинов — для управления функцией рецепторов в экспериментах.
6. Известны ядовитые ложноскорпионы и паралитические клещи.
7. Да, в частности нами созданы ИИ-модели, натренированные на базе данных Kalium, позволяющие предсказывать селективные лиганды калиевых каналов.

На заседании 11.11.2026 г. Диссертационный совет принял решение за проведение наиболее комплексного исследования яда паукообразных, изучение фундаментальных и прикладных аспектов использования природных токсинов, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, а также за получение уникальных лигандов нейрорецепторов и ионных каналов, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие страны, присудить **Василевскому Александру Александровичу** ученую степень доктора химических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 9 докторов наук (отдельно по научной специальности рассматриваемой диссертации 1.4.9. Биоорганическая химия), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав Совета, проголосовали: за - 23, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета чл.-корр. РАН И.В. Смирнов

Ученый секретарь
Диссертационного совета д.ф.-м.н. В.А. Олейников

11 ноября 2026 г.