

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  
15 марта 2017 года

Защита диссертации  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
**Степановой Анастасией Валерьевной**  
«Направленное изменение функциональных свойств антител, полученных из  
комбинаторных библиотек генов иммуноглобулинов»»

по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Москва 2017 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 15 марта 2017 года.

Председатель диссертационного совета  
академик РАН

Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета  
Доктор физико-математических наук

Олейников В.А.

Из 30 членов совета присутствует 27 человек, из них докторов по профилю диссертации – 8.

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.	Арсеньев Александр Сергеевич	(02.00.10)
6. Д.х.н.	Безуглов Владимир Виленович	(03.01.06)
7. Д.х.н.	Бовин Николай Владимирович	(03.01.06)
8. Академик РАН	Богданов Алексей Алексеевич	(03.01.03)
9. Академик РАН	Габибов Александр Габибович	(03.01.06)
10. Член-корр. РАН	Деев Сергей Михайлович	(03.01.03)
11. Д.х.н.	Дзантиев Борис Борисович	(02.00.10)
12. Д.б.н.	Долгих Дмитрий Александрович	(03.01.03)
13. Член-корр. РАН	Завриев Сергей Кириакович	(03.01.06)
14. Д.б.н.	Зарайский Андрей Георгиевич	(03.01.03)
15. Д.х.н.	Зубов Виталий Павлович	(03.01.06)
16. Д.б.н.	Лебедев Юрий Борисович	(03.01.03)
17. Академик РАН	Лукьянов Сергей Анатольевич	(03.01.03)
18. Академик РАН	Мирошников Анатолий Иванович	(03.01.06)
19. Д.х.н.	Овчинникова Татьяна Владимировна	(02.00.10)
20. Д.б.н.	Патрушев Лев Иванович	(03.01.06)
21. Д.х.н.	Румш Лев Давыдович	(03.01.06)
22. Д.б.н.	Сапожников Александр Михайлович	(03.01.03)
23. Д.х.н.	Уткин Юрий Николаевич	(02.00.10)
24. Д.х.н.	Формановский Андрей Альфредович	(02.00.10)
25. Член-корр. РАН	Цетлин Виктор Ионович	(02.00.10)
26. Д.х.н.	Шахпаронов Михаил Иванович	(02.00.10)
27. Д.б.н.	Шпаковский Георгий Вячеславович	(03.01.03)

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Переходим к повестке дня. Итак, Степанова Анастасия Валерьевна, защита кандидатской диссертации. Владимир Александрович доложит нам личное дело.

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

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

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Есть какие-то сомнения в том что мы слышали, замечания, дополнения? Все в порядке, спасибо. Анастасия Валерьевна, вам слово для доклада, 20 минут.

**Степанова А.В.:**

*(Излагает основные положения диссертационной работы).*

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо за доклад. Вопросы? Бовин.

**Д.х.н. Бовин Н.В.:**

Философия нас учит, и вообще жизненный наш опыт, что если что-то улучшается, то должна быть какая-то компенсация и что-то ухудшится. В данном случае что-то ухудшилось? Стабильность антитела, выход или что-то еще?

**Степанова А.В.:**

В данном случае значительным отличием нашего полученного мутанта от исходного антитела является то, что он потерял способность гидролизовать параоксон. То есть третья стадия реакции не выполняется. Данный мутант обладает эффективным связыванием – на два порядка лучше, чем антитело дикого типа, однако третья стадия гидролиза не происходит. Поэтому в данный момент, в данное время в нашей лаборатории проводятся работы по поиску мутанта и подбору таких условий мутагенеза, чтобы вернуть способность гидролизовать параоксон, но при этом не должно потеряться эффективное связывание, которого мы добились на данном этапе.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Задний ряд, Василевский.

**К.х.н. Василевский А.А.:**

В развитие предыдущего вопроса – потеряна способность гидролизовать. Почему? Потому что аргинин там, где вода? Или что? И соответственно, как вы планируете, вы говорите планируете, вернуть способность к гидролизу.

**Степанова А.В.:**

Данный мутант, по всей видимости, не обладает способностью гидролизовать параоксон, поскольку для гидролиза ковалентного комплекса необходимо наличие гидроксил-иона, что весьма маловероятно в случае этого мутанта, поскольку аргинин имеет положительный заряд и присутствие гидроксил-иона будет весьма маловероятно. Поэтому мы планируем создать и подобрать библиотеку таким образом, что бы этот процесс мог происходить.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Прошу, предпоследний ряд, а потом Долгих.

**Д.б.н. Маргулис Б.А.:**

Я бы хотел выяснить, правильно ли я понял относительно того что, где расположен этот тирозин и аргинин.

**Степанова А.В.:**

Они оба в легкой цепи.

**Д.б.н. Маргулис Б.А.:**

Понятно-понятно. Насколько они далеко.

**Степанова А.В.:**

Они там на расстоянии пары ангстрем друг от друга, очень близко.

**Д.б.н. Маргулис Б.А.:**

Значит мой вопрос состоит вот в чем: дело в том, что мутируя, так сказать, этот отрезок, фрагмент вот этих антител, мы изменяем его конформацию, естественно, потому что тирозин это очень серьезная аминокислота. С другой стороны, внося параоксон, мы тоже модифицируем это. То есть получается здесь модификация, с одной стороны

модификация и с другой стороны модификация, модификация параоксоном вот этого участка, фрагмента. Правильно ли я понимаю? Он влияет на конформацию данного конкретного участка?

**Степанова А.В.:**

Мы показали, что реакция взаимодействия мутанта S35R с параоксоном происходит по механизму индуцированного соответствия, то есть в предреакционном комплексе происходит подстройка активного центра под молекулу параоксона и дальше происходит реакция.

**Д.б.н. Маргулис Б.А.:**

Индукции соответствия. Интересно. Простите, я не уловил этого.

**Степанова А.В.:**

Да, то есть когда параоксон попадает в активный центр, происходит подстройка активного центра для улучшенной реакции, для прохождения реакции.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Долгих.

**Д.б.н. Долгих Д.А.:**

Скажите пожалуйста, насколько я понимаю, одним из основных достижений данной работы является разработка нового метода, новой платформы, которая сочетает в себе квантово-механический подход и молекулярное моделирование. Как вы считаете, насколько это перспективно, такой подход в случае, если не низкомолекулярный лиганд, а более, так сказать, существенная молекула, так сказать, более существенный антиген, какие-то молекулы белков для антител. И планируются ли такие работы.

**Степанова А.В.:**

Действительно, данный подход не заканчивается на использовании его для исследования антител против фосфорорганических соединений. Однако мне кажется, что использование более высокомолекулярных субстратов будет не такой простой задачей, как в случае параоксона, так как параоксон – маленькая молекула. И поскольку методом квантовой механики описываются аминокислотные остатки активного центра плюс субстрат, а поскольку субстрат будет иметь более большой размер, то его сложнее будет описать. Но мне кажется что это возможно, в принципе.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Прошу вас.

**Д.х.н. Формановский А.А.:**

Анастасия Валерьевна, нет ли у вас впечатления, что снизив количество рассчитываемых мутантов до 9, вы могли потерять некоторые перспективные соединения.

**Степанова А.В.:**

Поскольку мы 9 мутантов получили по определенным критериям – это позиционирование параоксона, то есть оно должно происходить эффективно, если оно не происходит эффективно, то вряд ли данный мутант будет обладать способностью хорошо взаимодействовать с параоксоном. А так же по критерию прохождения реакции. То есть оба эти критерия должны выполняться, причем с довольно жесткими условиями что бы реакция проходила эффективно.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

То есть вы считаете что не теряется?

**Степанова А.В.:**

Да.

**Д.х.н. Формановский А.А.:**

Если можно в продолжение: позиционирование может быть не очень хорошим, но очень быстрым может быть последующий гидролиз, та самая последняя стадия, которая у вас, к сожалению, не идет. Здесь возможна компенсация двух эффектов.

**Степанова А.В.:**

Действительно, наверное такое возможно, Но если позиционирование не будет происходить эффективно, то не будет образовываться ковалентный комплекс быстро и эффективно, гидролиз может идти быстро, но просто гидролизовать в таком случае надо будет совсем небольшое количество образовавшихся ковалентных комплексов, то есть этот процесс будет все равно не настолько эффективен, поскольку ковалентного комплекса будет образовано слишком мало.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Да, прошу, Роман Гербертович.

**Д.ф-м.н. Ефремов Р.Г.:**

У меня вопрос по методической части. И частично он перекликается с вопросом Дмитрия Александровича. Сначала вы использовали классический докинг. Да?

**Степанова А.В.:**

Да.

**Д.ф-м.н. Ефремов Р.Г.:**

Метод довольно неточный, учитывая даже если известна пространственная структура, потому что мишень статична, как правило, оценочные функции не очень хороши, это состояние на сегодняшний день. После этого, имея несколько вариантов докинг-решений, вы используете уже такой гораздо более точный подход КМ/ММ – гибридный метод. Но возможно, что ошибки, полученные на первом этапе докинга, они перекроют с лихвой все те решения, которые вы получаете при КМ/ММ анализе. Потому что вы стартуете с конфигурации, которая может быть не точна. Просто в силу того, что вы не учитываете динамику структуры, которая должна быть в нативных условиях, и так далее. Вот как вы оценивали? Тем не менее у вас получается, как вы сказали, итоговый комплекс, который был потом решен, структура решена, близок к тому что вы предсказали. Вот насколько близок в терминах среднеквадратичного отклонения. Вот насколько удивительно, то есть это хороший результат, очень интересно. Что вы можете сказать на эту тему?

**Степанова А.В.:**

Ну, насколько близок, так вот прямо я вам не смогу ответить. Но действительно, докинг может наверно предсказать с какими-то небольшими изменениями. Но мы считаем, что раз мы на последнем этапе – при экспериментальной проверке – показали, что мутант наш расчетный он действительно обладает лучшей эффективностью взаимодействия, то мы можем позволить себе сделать вывод, что значит и на всех предыдущих этапах расчетов мы двигались в правильном направлении. Раз финальная точка совпала с расчетным мутантом.

**Д.ф-м.н. Ефремов Р.Г.:**

Спасибо.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Прошу.

**Д.х.н. Дзантиев Б.Б.:**

Я вас поздравляю, очень интересная работа в научном плане. Немного сейчас работ, которые идут таким путем и идут успешно. То есть в чисто познавательном плане первый вопрос – вы идете от  $10^{23}$ , потом нереально, потом 15 тысяч, потом 9, если я правильно запомнил 15 тысяч. Насколько трудоемок процесс от 15 тысяч к 9? Сколько это занимает времени? И второй вопрос уже более конкретный: вот у вас модель – параоксон. Параоксон, ну все мы прекрасно понимаем, что это близкий аналог фосфотравляющих веществ, которыми много лет занимаются в академии химзащиты, и разработаны очень эффективные антидоты. Вы пишете там на первой странице реферата, что это в случае успеха может быть вот таким биоантидотом. Неужели вы реально представляете, что это может конкурировать с разработанными антидотами?

**Степанова А.В.:**

Спасибо за вопрос. Действительно, мы пробовали использовать данный мутант в ходе острого отравления мышей параоксоном и скоростей не хватает, естественно, что бы инактивировать параоксон. Однако сейчас мы проводим опыты *in vivo* в случае хронического отравления параоксоном, поскольку параоксон это пестицид и поэтому более вероятны хронические отравления им. А также все-таки мы надеемся что нам удастся найти мутант, предсказать мутант, который будет гидролизовать параоксон с какими-то эффективными скоростями. И может быть тогда он сможет на каком-то уровне конкурировать с существующими антидотами.

**Д.х.н. Дзантиев Б.Б.:**

Понятно. Это в будущем все-таки. И вот трудоемкость от многих тысяч до 9, сколько этот занимает процесс по времени.

**Степанова А.В.:**

То есть что бы перейти от 15 или 16 сколько там было тысяч мутантов до 9, сначала нужно определить мутанты, которые обладают позиционированием, потом просмотреть в каких мутантах протекает реакция. То есть это такой довольно трудоемкий процесс, поскольку для анализа протекания реакции необходимо использование методов КМ/ММ, то он занимает порядка нескольких недель.

**Д.х.н. Дзантиев Б.Б.:**

Неделя это еще не много. Спасибо, очень интересные результаты.



**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо. Прошу.

**Д.б.н. Патрушев Л.И.:**

Вот есть такое замечательное семейство ферментов, которые называются цитохромы P450, которые метаболизируют колоссальное число ксенобиотиков, практически все. Вы не хотите использовать те данные, которые накоплены в этой области, в своей, так сказать, для того, что бы улучшить работу антител. Может быть вообще надо было начать с цитохромов?

**Степанова А.В.:**

Спасибо за замечание. Мы над этим подумаем обязательно. Поскольку это были наши такие пилотные первые эксперименты, мы начали с того, что у нас было, просто попробовать, получится или нет. Было антитело A17, поэтому мы начали с него. Но мы подумаем над этим.

**Д.б.н. Маргулис Б.А.:**

Скажите, короткий вопрос. А A17 нейтрализует действие параоксона *in vivo*?

**Степанова А.В.:**

*In vivo* нет, скоростей не хватит, он очень медленно взаимодействует.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Александр Сергеевич.

**Д.х.н. Арсеньев А.С.:**

Вопрос такой. Это очень мультидисциплинарная работа, я просто восхищен методиками, которые там присутствуют, количеством проделанной работы. Вопрос следующий. Вот ваш личный вклад, то что там кристаллизация и хорошая биохимия, и мутагенез, и биохимические расчеты в разных вариантах. Это либо новый тип научного сотрудника, выращенный – многофункциональный – в лаборатории Александра Габибовича, и тогда мои искренние поздравления, либо это большой коллективный труд.

**Степанова А.В.:**

Действительно, поскольку работа сочетает в себе очень много различных направлений, то я непосредственно участвовала во всех этапах. Расчеты были произведены совместно с доктором химических наук Головиным Андреем Викторовичем из МГУ, я участвовала в обсуждении алгоритма механизма реакции, в обсуждении виртуальной библиотеки – какие граничные условия наложить, в анализе полученных данных. Все экспериментальные данные, а именно: получение генетических конструкций, клонов, экспрессия, очистка, получение и анализ кинетических данных – это все было произведено лично мной. Кристаллы мутанта S35R в ковалентном комплексе и немодифицированного так же были получены мной в Гамбурге и анализ полученных кристаллических структур был произведен совместно с коллегами из Европейской молекулярно-биологической лаборатории города Гамбург.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Вопросы иссякли? Или еще есть? Спасибо. Их было немало. Спасибо. Отдохните немножко. Переходим к отзывам. Вначале отзыв ведущей организации.

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

Так. Ведущая организация это Институт молекулярной биологии имени Энгельгардта. Отзыв полностью положительный. *(Зачитывает отзыв, отзыв положительный)*. Начинается с того, что обосновывается актуальность темы совершенно великолепно, показывается связь темы диссертации с общим направлением развития науки и народного хозяйства. Ну в частности пишется, что востребованность антидотов к фосфорорганическим токсинам обусловлена все возрастающим бесконтрольным применением пестицидов, опасностью техногенных катастроф и достаточно высокой вероятностью террористических атак. Важным подходом является использование биологических антидотов на основе антител. И совершенствование существующих подходов или же разработка новых перспективных методов белков с улучшенными свойствами является задачей первостепенной важности. Далее, работа посвящена проблеме разработки способов направленной модификации антител к фосфорорганическим токсинам, с целью улучшения эффективности их взаимодействия. Выбран А17. Диссертация построена по традиционному плану. Представлен обширный литературный обзор из нескольких частей. Обзор написан четко, логично и подготавливает читателя к пониманию выполненной работы. Наибольший интерес представляет глава результаты и обсуждение. В первой части работы диссертантом была проведена детализация механизма реакции антитела А17 с пестицидом параоксоном.

Показано, что реакция взаимодействия этих антител с параоксоном протекает по классическому механизму. Ключевой стадией инициации процесса является перенос протона с нуклеофильного остатка на фосфорильный атом кислорода параоксона. Вторая часть работы – автор провел поиски алгоритма для получения мутантных форм антитела A17 заданной специфичности. Автор показал, что полученная кристаллическая структура активного центра модифицированного антитела L-S35R совпадает с теоретически предсказанной методами квантовой механики/молекулярной механики. Значимость диссертационной работы для науки и практики: работа содержит обоснованные инновационные предложения по созданию биокатализаторов с заранее заданными свойствами. Ну вот важный момент – замечания. В ходе выполнения работы автором продемонстрирован новый подход, направленный на получение биокатализаторов с улучшенными свойствами. Тем не менее, к сожалению, в диссертации мало сказано о применимости данного подхода к другим биокаталитическим реакциям, отличным от метаболизма фосфорорганических соединений. Желательно было бы привести в работе больше рассуждений диссертанта по поводу возможностей предложенного метода. В работе автором, кроме проанализированного мутанта получено еще несколько мутантных форм биокатализатора, которые далее не подвергались детальному исследованию. В диссертации нет существенных сведений о перспективах их использования. Но тем не менее, сделанные замечания не умаляют достоинств представленной работы и могут быть разъяснены в ходе защиты диссертации. Ну и далее говорится в заключении что диссертация выполнена на высоком методическом уровне, является завершенным фундаментальным исследованием. В рамках работы на диссертацией Степановой предложен алгоритм, в котором вместо традиционного скрининга применяется виртуальный, при котором используются методы квантово-механических расчетов, позволяющие заметно сократить временные затраты экспериментатора. Ну далее подробно опять же возвращаются к тому что именно конкретно сделано. Данные, полученные автором, докладывались на российских и международных конференциях, полностью опубликованы в рецензируемых научных журналах и могут быть использованы, ну и перечислен целый ряд организаций, где. Работа полностью удовлетворяет требованиям положений о присуждении ученых степеней и, соответственно, автор, безусловно, достоин присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 «Молекулярная биология». Значит обсужден отзыв на семинаре лаборатории молекулярных основ действия физиологически активных соединений. Подписано членом-корреспондентом, профессором Кочетковым

Сергеем Николаевичем. И утверждено заместителем директора Карповым. Значит вот такой отзыв.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Там была пара замечаний. Просят разъяснить.

**Степанова А.В.:**

Спасибо Сергею Николаевичу за отзыв и за замечания все. Первый вопрос был про универсальность предложенного алгоритма. Действительно, в тексте диссертации и в докладе я не уделила внимания универсальности данного метода. Могу сказать, что данный алгоритм не привязан к конкретному белку, а основывается только на изучении механизма реакции. Поэтому с помощью данного алгоритма можно не только изучать антитела, метаболизирующие фосфорорганические соединения, но также другие ферменты и антитела. В частности в нашей лаборатории сейчас идут работы по использованию данного алгоритма для ДНК-гидролизующих антител, а также для фермента бутирилхолинэстеразы. И второй вопрос был про то, что не все мутанты были охарактеризованы. Действительно, в данной работе наибольший интерес представляет расчетный мутант S35R, который был полностью охарактеризован с помощью различных методов, так же мы охарактеризовали мутант S35H, который сохранил способность гидролизовать параоксон. Остальные мутанты не предоставляли для нас такого интереса и в силу больших временных затрат мы решили не проводить полный цикл исследований.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо, понятно. Дальше по процедуре у нас отзыв научного руководителя. Вы можете охарактеризовать диссертанта, Иван Витальевич Смирнов.

**К.х.н. Смирнов И.В.:**

Уважаемые коллеги. Во-первых благодарю всех за такое жаркое обсуждение и вопросы. Это говорит о том, что тема которой занимается Анастасия, она очень важна, интересна и находит отклик у нашего научного сообщества. Вот охарактеризовать Настю как ученую я могу максимально положительно. Почему – потому что вообще работа, область исследований которую разрабатывала Анастасия, она была абсолютно новой для нашей лаборатории. И, более того, именно Настя была одним из инициаторов использования методов компьютерных расчетов для существующих у нас в лаборатории технологий получения каталитических антител, исследования каталитических антител, механизма,

свойств и так далее. Обычно компьютерных методы используют как один из способов объяснения уже существующих экспериментальных данных. В работе Анастасии это как раз был не один из способов, а это был основной метод, на основании которого строилась вся работа. Это потребовало от нее вникнуть во все тонкости, особенности компьютерного моделирования и компьютерных расчетов за очень короткое время, и Настя это сделала с успехом. Безусловно ей помогали, вот в частности Андрей Викторович Головин, но без способностей Насти, без ее усердия этого бы не получилось, поэтому она очень хорошо, очень точно и очень, так сказать, объемно вошла в эту область науки. Так же, вот как Анастасия отвечала на вопрос – что конкретно она сделала в этих исследованиях – она сделала, она участвовала практически, ну не практически, а на всех этапах этого исследования. Она освоила вот такие сложные методы кинетического анализа как предстационарная кинетика, она делала их самостоятельно, она полностью анализировала результаты, интерпретировала эти результаты, такой сложный, далеко не каждый сотрудник полностью участвует в получении и анализе кристаллографических данных. Однако Анастасия, она самостоятельно была в командировке, она получала кристаллы, она получала и снимала данные, она участвовала уже совместно с нашими коллегами из ЕМБЛ в описании структуры, ну а сам собственно анализ именно тех структурных изменений она делала абсолютно самостоятельно. Настя является большим специалистом, наверное одним из таких лучших специалистов нашей лаборатории в области дизайна комбинаторных библиотек, создании комбинаторных библиотек, в частности она участвует в проекте, который не вошел в ее кандидатскую диссертацию, проекте, связанном с работой с бутирилхолинэстеразой. То есть она создала несколько библиотек, комбинаторных библиотек активного центра бутирилхолинэстеразы, которые также направлены на получение, может быть, нового, абсолютно нового, принципиально нового антидота, биологического антидота против отравления фосфорорганическими токсинами. Настя была в лаборатории профессора Ричарда Лернера, который является основателем, одним из основателей такой области науки, как каталитические антитела. И так же там проявила себя с самой лучшей стороны. Работать с Настей очень приятно, очень легко, и я надеюсь, что наше дальнейшее сотрудничество оно будет длиться очень долго еще. Спасибо.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо. У нас есть отзыв на автореферат. Один или больше?

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

Поступил один отзыв на автореферат. Значит отзыв положительный полностью, но с замечаниями. Значит ну я опущу положительную часть. В изложении материала в автореферате имеется ряд мелких недочетов и погрешностей. Так, например: на странице 10 указано, что стояла задача по «перепрограммированию реакционного механизма», что противоречит первому из условий, которым должна удовлетворять библиотека мутантов: механизм реакции должен остаться без изменений. Это первое. Второе: на странице 12 указано, что в результате виртуального скрининга было отобрано 9 мутантов, в то время как в таблице 1 их только восемь. Третье – в тексте автореферата есть неисправленные опечатки и стилистические погрешности. Ну, опять же, указанные неточности ни в коей мере не умаляют, выполнена работа на высоком экспериментальном уровне, что свидетельствует о свободном владении диссертантом современными методами аналитической биохимии, молекулярной биологии и, соответственно, материал по объему и значимости соответствует требованиям ВАК, а сама Степанова Анастасия Валерьевна безусловно заслуживает присуждения искомой степени. Подписано зам. заведующего кафедрой химии природных соединений химфака МГУ кандидат химических наук, доцент Бачева. Три замечания.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Слушаем ответы на замечания.

**Степанова А.В.:**

Спасибо Анне Владимировне за отзыв и вопросы. Все замечания про погрешности учту. В качестве ответа на первый вопрос – перепрограммирование механизма реакции – просто очень неудачно употребили термин и под перепрограммированием механизма реакции мы, естественно, имели в виду не изменение его механизма, а улучшение, то есть чего мы и добились – улучшение эффективности взаимодействия. Просто не совсем корректно был употреблен этот термин, поэтому ввел в заблуждение. И относительно того, что в таблице только 8 мутантов: несмотря на то, что мы меняем и мутирует только одну аминокислоту, однако это иногда приводит к тому, что уровень экспрессии настолько низок, что не позволяет провести никакие дальнейшие исследования или иногда это приводит к тому, что экспрессия белка полностью пропадает, что и случилось в нашем случае. Поэтому нам не удалось проанализировать все предсказанные мутанты, а только 8.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Их, все-таки, было 9. Все понятно. Ну что ж, переходим к заслушиванию отзывов официальных оппонентов. Профессор Шайтан Константин Вольдемарович, биофак МГУ.

**Д.ф-м.н. Шайтан К.В.:**

*(Отзыв положительный, отзыв прилагается)*

Уважаемые коллеги, прежде чем формально зачитать отзыв я хочу сказать два слова, но основные слова, которые, наверное, может сказать оппонент – что диссертация мне эта очень понравилась и, так сказать, у меня нет абсолютно никаких сомнений что диссертант заслуживает присуждения искомой ему степени. Ну а что касается самой диссертации, я так понимаю что нет нужды, так сказать, повторять что там сделано. Но я отмечу актуальность этой работы, потому что она связана со структурными закономерностями и молекулярными механизмами, важных с практической точки зрения, функциональных процессов. Автор использует самые современные методы, сочетания методов биоинформатики, методов молекулярного моделирования в варианте КМ/ММ, так же методы, связанные с белковой инженерией. И все это в совокупности выглядит, я должен сказать, очень красиво. Теперь по самой диссертации. Значит она построена по традиционной схеме, так сказать. В водной части обрисовывается актуальность, формулируются цели, задачи. Приятно читается литературный обзор, в котором введены все необходимые, так сказать, понятия, связанные с рассмотрением рационального дизайна, как средства улучшения каталитической активности и эффективности действия белковых структур. Подробно рассмотрены экспериментальные и теоретические методы рационального дизайна структур ингибиторов фосфорорганических токсинов, эффективные методы отбора структурных библиотек, методы получения антител против ФОТ и так далее. Но литературный обзор не свободен от замечаний, поэтому, так сказать, они, обычно, такого стилистического характера. Ну вот в качестве забавных выражений можно отметить следующее: «Поверхность потенциальной энергии показала...», «замена его может повлиять на электронную среду...», «происходит протонный перенос в, так сказать, атомах углерода...», «депротонирует углерод и рассеивает получившийся отрицательный заряд...», ну и так далее. Все это никак, так сказать, абсолютно не умаляет достоинств работы, просто понятно что глаз замыливается, он этого не видит. Ну дальше в разделе материалы и методы автор с достаточной степенью подробности излагает там все соответствующие используемые, так сказать, методики. Приятный совершенно момент заключается в том, что, так сказать, выполнялся так же рентгеноструктурный анализ полученных форм антител для установления их пространственной структуры. И

данные размещены в Protein Data Bank. В разделе результаты и обсуждения представлена сутевая часть работы. На первом этапе работы был исследован механизм реакции взаимодействия антитела A17 с параоксон. Проведено моделирование, детальное понимание механизма этого процесса. Разработанный автором подход, как уже, так сказать, говорилось в докладе, позволил сильно редуцировать размер библиотеки возможных антител и проскринировать эту редуцированную библиотеку, получив ограниченный набор вариантов для решения поставленных задач. Положительным моментом диссертации является проведенная автором экспериментальная проверка расчетных результатов, это вот бывает не так часто, к сожалению. Для всех мутантов, обладающих активностью по данным молекулярного моделирования были созданы генетические конструкции, которые были проэкспрессированы. Получение чистых белковых препаратов позволило провести ряд экспериментов, которые подтвердили что вот мутант L-S35R обладает наибольшей эффективностью. В чем вот было в докладе как было сказано, так сказать, эффективность возросла чрезвычайно сильно. Ну резюмируя я могу сказать что в ходе выполнения работ Степановой получен ряд новых научных результатов. Показана возможность теоретического прогнозирования получения каталитических антител против высокотоксичных токсинов, что, в общем-то, трудно, если невозможно достичь использованием классических методов иммунизации. Автор показал, в общем, свою квалификацию, должен вам сказать вот диссертация это квалификационная работа. Автор показал несомненно свою высокую квалификацию. Материалы изложены логично, автореферат соответствует содержанию диссертации. Ну вот у меня есть такие небольшие замечания по сутевой части работы, значит, ну вот, например: автор использует пакет программ для молекулярного моделирования, но не приводит при этом, например, параметры протокола квантово-химических расчетов, в каком базисе они проводились, так сказать, это хотелось бы видеть. Не, так сказать, обсуждается выбор силовых полей, термостатов, длины траекторий – почему так, а не иначе. В качестве выбора температуры указана, так немножко смешно, температура человеческого тела, которая, я думаю, у аудитории нет двух людей с абсолютно одинаковой температурой. Вот. На рисунках где цветом определяется величина энергии состояния – 22, 25, 27 – не, значит, указана цветовая шкала значений энергии или чего-то там что отложено, что бы как бы можно было проанализировать читателю более количественно, а не качественно. Но все эти соображения имеют частный характер, не влияют на обоснованность положений, выносимых на защиту, не снижают мою, так сказать, общую положительную оценку. Результаты на достаточном числе международных конференций доложены, есть



достаточное число публикаций в журналах, которые требует ВАК. И диссертация имеет четко выраженный фундаментальный характер, вносит существенный вклад в разработку новых методов поиска белков с улучшенными свойствами, в частности для разработки эффективных биокатализаторов деградации фосфорорганических токсинов. Ну и, так сказать, всем требованиям, я не буду их зачитывать, там номера постановлений правительства и всего такого прочего, диссертация удовлетворяет и, конечно, безусловно, заслуживает присуждения искомой ученой степени ее автор Степанова Анастасия Валерьевна. Спасибо за внимание.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо. Анастасия Валерьевна, там было замечание, имеете возможность ответить.

**Степанова А.В.:**

Спасибо Константину Вольдемаровичу за такое детальное изучение работы, все замечания, все учту. Значит первый вопрос относительно того, какие мы использовали, в ходе расчетов какие были использованы алгоритмы и прочее – значит для квантово-механической части системы мы использовали гамильтониан PM6 D3H4, поскольку он оптимизирован для моделирования водородных связей. То есть образование водородных связей является главным, одним из главных критериев в нашей работе, поскольку мы изучаем позиционирование параоксона. Молекулярно-механическая часть была описана силовым полем parm99, поскольку с помощью него улучшенным образом описываются конформационные движения боковых радикалов аминокислот. Температура человеческого тела, это действительно звучит немножко странно, была установлена на 310 кельвинов. Длины траекторий составляли 10 пикосекунд, однако в случае благоприятного исхода реакции, реакция протекала за 3-5 пикосекунд. И в качестве термостата, поскольку при таких длинах траекторий влияние различных термостатов не столь заметно, то мы выбрали самый точный термостат, которым является термостат Нозе-Гувера. И относительно цветовой шкалы, это вот к этим 4д диаграммам. Цветом отмечен логарифм плотности состояний, он изменяется от синего, что соответствует высокой плотности состояний, до красного, что соответствует низкой плотности состояний. Мы выбрали такой вариант представления данных, поскольку вычисление абсолютных значений энергии затруднено. Это связано с тем, что в ходе метадинамики мы наблюдаем за довольно редким событием – это отрыв протона от кислорода тирозина и что бы увеличить вероятность прохождения данной реакции, мы нагреваем эту связь. Поэтому для вычисления абсолютных значений энергии необходимо учитывать

добавленную энергию с определенным весом, что технически затруднено. И для корректной интерпретации данных нам значения абсолютных энергий не требуются, нам достаточно знать плотность состояний, собственно чем мы и обосновываем лучший механизм мутанта S35R.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Все у вас? Спасибо. Мы учтем ваши ответы. Продолжаем заслушивание отзывов официальных оппонентов. Доктор биологических наук Сергей Владимирович Тиллиб, институт биологии гена.

**Д.б.н. Тиллиб С.В.:**

*(Отзыв положительный, отзыв прилагается)*

Уважаемый председатель, коллеги. Ну прежде всего от себя хочу сказать, что мне было чрезвычайно интересно познакомиться с данной работой. Моя лаборатория, в основном, занимается иммунными библиотеками однодоменных верблюжьих антител и мы вот уже давно получаем там сотни однодоменных антител для разных приложений и пока очень мало занимались *in vitro* эволюцией вот первоначально отбираемых антител, мало занимались комбинаторными библиотеками и очевидно, что чему посвящена данная работа, в частности, нам чрезвычайно интересно как дополнение к нашей работе. Безусловно это возможность улучшить первоначально отбираемые антитела и в ряде случаев просто ну вообще хотелось бы работать с какими-то большими комбинаторными библиотеками, исключив при возможности, стадию иммунизации, которая часто и трудоемкая, затратная и не всегда предсказуемая. Вот, и данная работа, ну прежде всего отмечу, что она делалась довольно продолжительное время, первая статья, указанная в диссертации, она опубликована еще в 2011 году, то есть работа делалась достаточно много лет, 6 лет по крайней мере. И это понятно почему – потому что она, очевидно, пионерская работа в этой области, ну здесь была дискуссия после доклада, она очень понятна, потому что здесь нету каких-то стандартных путей, каналов, где там масса лабораторий, ученых может продуктивно работать. Здесь именно идет поиск и проверка имеющихся возможностей привлечения методов *in silico*, компьютерного моделирования, наряду с проверкой функциональной традиционными молекулярно-биологическими методами. И вот использование современных компьютерных возможностей, современных, видимо, библиотек, рентгеноструктурного анализа разных молекул, в общем это, конечно, крайне актуальное направление. Эта работа является отражением этих мультидисциплинарных подходов, когда используются современные достижения,

накопленные данные, базы данных и уже как бы на основе предварительных *in silico* предположений ведется целенаправленная и сфокусированная, не столь масштабная и оптимальная работа в лаборатории по проверке полученных предсказаний. Исходно здесь бездна возможностей, много как бы путей использования этих подходов, каждого интересуют как бы свои пути направления, меня, в частности, как раз интересовало направление как улучшить аффинность – антигенспецифическое связывание. В данном случае речь идет о приложении к токсинам, так очень частый случай как бы инактивации токсинов – именно специфическое связывание, ну, желательно, с активным центром, что бы нарушить функции и последующее выведение из организма естественным образом. То есть вот гидролизующая активность, использование биокаталитических антител – это, конечно, уже такой высший пилотаж, это очень желательно, но это и крайне сложная задача. И здесь понятно почему в работе была поставлена реальная задача, которую автор успешно решил. Задача – улучшить одно из свойств каталитического антитела, то есть взято было исходно достаточно слабое неспецифическое антитело и сильно улучшено одно из его свойств, то есть связывание токсина. В принципе это очень важный момент, потому что просто антитело уже реально можно использовать и для детекции и для каких-то опытов по траппингу – связыванию токсина. Но вообще значение этой работы я рассматриваю как теоретическое в первую очередь, просто выявление возможностей, разработка подходов, как, вот собственно оптимизировать свою работу для решения конкретных задач. В общем, работа однозначно пионерская, автор этой работы является на правах первого автора в публикации, которая вышла в 2016 году в журнале *Science Advances*, в общем такой высокорейтинговый журнал. Это отражает, что работа на вполне высоком современном уровне и, очевидно, пионерская. Поэтому у меня нет сомнений как и в актуальности этой работы, так и в том, что она безусловно соответствует всем требованиям для подобного рода диссертационных работ. Я сам двумя руками за то, что бы эту работу поддержать. Ну предыдущее выступление мне облегчает задачу как бы не читать весь отзыв, который написан по традиционной схеме. Ну просто еще раз скажу, что вот основная суть работы это то, что предложен алгоритм предсказания мутантных форм антител заданной специфичности, позволяющий определить позицию и тип аминокислотного остатка для проведения мутагенеза. И, соответственно, их предсказания были подтверждены экспериментально, с соблюдением всех правил и в этом плане, конечно, работа крайне интересна и такого широкого спектра возможностей. Остановлюсь на некоторых замечаниях. Ну, прежде всего, я присоединяюсь, что есть некоторые стилистические погрешности в оформлении диссертации – нежелательные интервалы

между словами, знаками препинания, интервалы между буквами в словах. Мне сказали, что это при печати диссертации форматирование было неудачно сделано, поэтому накопились такие недочеты. Отмечу так же необязательное разбивание таблиц на две страницы – нет смысла было так сжимать текст, когда таблицы и рисунки вполне помещаются с подписями на одной странице, не было смысла их разбивать на две. То есть подписи к рисункам и таблицы. Это, в общем, такие стилистические вещи. А из вот таких дискуссионных – отмечу что из представленных результатов следует, что расчетные мутанты, ну как здесь уже отмечали, потеряли способность осуществлять полный каталитический цикл. Мне это ясно, но когда я читал это не было вполне ясно, являлось ли это запрограммированным событием. Связано ли это с алгоритмом расчета и можно ли предсказывать мутанты с полным каталитическим циклом? В работе, на мой взгляд, недостаточно внимания уделено обсуждению проблемы универсальности предложенного метода. В каких случаях его можно использовать для улучшения структуры антител и, возможно, ферментов. Известно, что большое количество ферментов, гидролизующих фосфаты - металлы зависимые, и ключевую роль в катализе играет именно ион металла. Есть ли примеры ферментов в природе, которые имеют механизм взаимодействия с фосфорорганическим субстратом аналогичный с описанными в диссертации антителами? Все эти замечания они носят такой необязательный дискуссионный характер и работа Степановой представляет собой очень интересное и актуальное исследование, выполненное самыми современными методами и, безусловно, вносящее существенный вклад в дальнейшее развитие методов эволюции биокаталитической активности. Полученные результаты являются убедительными, а сделанные выводы не вызывают сомнений. Автореферат и публикации отражают основное содержание диссертации. Диссертация Степановой «Направленное изменение функциональных свойств антител, полученных из комбинаторных библиотек генов иммуноглобулинов» по актуальности темы, объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов является законченной работой высокого теоретического и экспериментального уровня. Диссертационная работа Степановой полностью соответствует критериям, установленным "Положением о присуждении ученых степеней", а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности молекулярная биология. Спасибо за внимание.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо за отзыв. Анастасия Валерьевна, у вас есть возможность среагировать на замечания.

**Степанова А.В.:**

Спасибо, Сергей Владимирович, за замечания и вопросы. Все замечания учту. Значит, действительно, как я уже сказала в докладе, целью данной работы было улучшение первой стадии реакции. Поскольку реакция является постадийной, то в данной работы мы сконцентрировали свое внимание на первых стадиях реакции. В настоящее время идут работы по получению мутанта, который будет способен гидролизовать параоксон и так же, как бы параллельное направление – мы думаем сейчас использовать другую матрицу, которая не будет в ходе реакции образовывать ковалентный комплекс с параоксоном, а напрямую гидролизовать его. Значит второй вопрос был про универсальность механизма. Как я уже отвечала на вопрос ведущей организации – что данный механизм не привязан к конкретному белку, а основывается только на механизме реакции, поэтому его, в принципе, можно использовать и для других антител и ферментов. И последний вопрос про ферменты, которые используют похожий механизм. Действительно, эволюционно всего несколько ферментов используют тирозин в качестве каталитического остатка в ходе ковалентного катализа фосфорсодержащих соединений. В нашей статье, опубликованной в Science Advances мы показали, что активный центр мутанта S35R и его ключевые остатки имеют очень схожее расположение с ключевыми остатками таких ферментов, как топоизомераза 1B и CRE-рекомбиназа. То есть мы показали, что ключевые остатки мутанта и их расположение схоже с эволюционно совершенными ферментами, коими и являются топоизомераза и рекомбиназа.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Все у вас?

**Степанова А.В.:**

Да.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо. Ну что ж. У нас завершена запрограммированная часть обсуждения работы. Кто бы хотел выступить в общей дискуссии? Может быть какие-то соображения возникли по ходу доклада? Сергей Михайлович, прошу.

**Член-корр. РАН, Деев С.М.:**

Дорогие коллеги, очень кратко. Мне очень нравится эта работа. Я следил на протяжении нескольких лет как она проходила. Эта работа является сверх или суперсовременной химией сегодняшнего дня, то есть я с одной стороны здесь вижу те истоки, которые еще когда-то мы вместе с Александром Габибовичем работали вместе в лаборатории Александра Сергеевича Бромшейна – это биокатализ самого интересного уровня. Потому что это уже квантово-механические расчеты, это позиционирование определенных остатков. Я вообще довольно сдержанно отношусь к биоинформатике, потому что имел на протяжении десятков предыдущих лет много предсказаний, которые обычно не оправдываются. В лучшем случае биоинформатики предыдущих лет объясняли то, что экспериментаторы получали в пробирке исследуя белки. А здесь действительно предсказание, здесь вот работа высочайшего уровня. Опубликована она в Science Advances, это очень престижный журнал, это группа Science и я знаю что эта работа много месяцев проходила всяческое рецензирование и очень трудно там публиковалась. Это, конечно, успех нашего института, что мы публикуемся в такого уровня изданиях. И эта работа, которая на стыке биоинформатики, энзимологии и такого высочайшего класса биоорганической химии оставляет у меня самое приятное впечатление, я горд за наш институт. Спасибо.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо. Кто еще хотел бы высказаться?

**Д.х.н. Дзантиев Б.Б.:**

Я можно скажу.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Прошу.

**Д.х.н. Дзантиев Б.Б.:**

Коллеги дорогие. Не могу не сказать, так как мы много лет работаем с антителами. И все кто с ними работает, понимают какая гигантская работа проделана вот на этих 110 страницах диссертации, которую мы сегодня обсуждаем. И то что мы умели делать фактически до сегодняшнего дня, это получать антитела и, в лучшем случае, постулировать какими свойствами они обладают. Направленное влияние на специфичность антител, такие возможности получились относительно недавно, несмотря на то, что антитела научились получать еще в позапрошлом веке. А в прошлом веке

получена Нобелевская премия за моноклональные антитела. Потом научились получать рекомбинантные антитела и это замечательно делают в том числе и в институте биоорганической химии. Но предсказать и сделать антитело, которое обладает заданной специфичностью – это то что происходит сейчас на наших глазах. И я думаю, что очень скоро это станет таким магистральным движением в получении антител. Получение антител с использованием иммунизации животных очень скоро отойдет в прошлое. И то, что особенно было интересно в этой работе - основная задача науки – это предсказывать. То что была предсказана структура, сделана структура и потом методами рентгеноструктурного анализа доказано, что она соответствует тому, что и в кристалле – это несомненно успех. И несомненно, на мой взгляд, выводит эту работу, ну все мы говорим, что соответствует кандидатскому уровню, а эта соответствует очень высокому кандидатскому уровню. Поэтому я целиком за эту работу, буду голосовать за нее и надеюсь, что вы сделаете тоже самое. Спасибо.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо. Я хочу сказать пару слов в связи со следующим. Я полностью присоединяюсь к высочайшему качеству работы и призываю голосовать за нее. Я обратил внимание на условность выбора специальности данной работы. Работа кандидата биологических наук, Сергей Михайлович рекомендовал как современнойшую химию, где есть и дизайн, где есть и кинетические исследования, есть и кристаллизация и прочее и прочее. Я не говорю, что это выбор неправильный. Там есть мутагенез сайт направленный. Поэтому здесь есть существенный биологический компонент. Но тем не менее условность выбора специальности – она налицо. Это, я считаю, симптом сегодняшнего дня, той науки, которой мы занимаемся. Спасибо за внимание. Кто еще хотел бы выступить? Ну тогда мы завершаем выступление. Нам думаю еще нужно выбрать счетную комиссию. У меня есть некоторые заготовки. Я их озвучу без регалий, имен, отчеств – Бовин, Цетлин и Олейников. Отводы, самоотводы имеются? Обычно не бывает. То же самое сегодня. Нет возражения против данного состава счетной комиссии? Нет возражений. Спасибо. Счетная комиссия избрана. И перед тем, как двигаться дальше я, наверное, должен дать слово диссертанту для заключительного слова. Прошу.

**Степанова А.В.:**

Я бы хотела поблагодарить моих оппонентов Константина Вольдемаровича и Сергея Владимирович за детальное изучение моей работы. Ведущую организацию в лице Кочеткова Сергея Николаевича. Также я бы хотела поблагодарить всех сотрудников

лаборатории биокатализа. Моих научных руководителей Пономаренко Наталью Александровну и Смирнова Ивана Витальевича. Заведующего лабораторией Габибова Александра Габибовича. Всех моих коллег, особенно Юлиану Мокрушину и Татьяну Бобик. Также я бы хотела поблагодарить Головина Андрея Викторовича из МГУ, за помощь в расчетах. Наших коллег в Европейской молекулярно-биологической лаборатории Спироса и Матиаса Вильманса. Также профессора Майкла Блэкберна из института Шеффилда и профессора Ричарда Лернера из института Скриппс. И спасибо вам за внимание.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Спасибо. Нам предстоит после голосования утверждать проект заключений нашего совета. Может есть какие-то предварительные соображения по этому поводу, что бы свести к минимуму? Как водится, у Николая Владимировича есть замечания какие-то.

**Д.х.н. Бовин Н.В.:**

Шестая последняя страница, самая макушка. Там в первой фразе есть ляп, на мой взгляд: кроме того, отработаны протоколы экспрессии и очистки рекомбинантных Fab-фрагментов антител в дрожжах *Pichia Pastoris*. То есть первое – это Fab написано кириллицей. Так вообще-то не пишут, если вы хотите перейти на русский язык, то это будет не Fab, это будет Фас. Второе – если формально эту фразу читать, то тут получается, что очистка у вас в дрожжах, надо немножко переставить слова.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

То есть есть предложения по поводу редакции этой фразы. Я думаю, авторы проекта примут и будем считать, что этот вопрос будет решен. Больше замечаний нет по этому поводу? Объявляю перерыв на голосование. Голосуем.

*(Проходит голосование)*

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

Так, Степанова Анастасия Валерьевна. Защита сегодня. Отработала счетная комиссия. Результаты счетной комиссии: присутствовало на заседании 27 членов совета, роздано - 27, оказалось в урне - 27, за - 27, против - нет, недействительных - нет.

**Председатель, академик РАН, Иванов В.Т.:**

Прошу утвердить итоги голосования. Спасибо.



*(Далее проходит голосование по проекту заключения диссертационного совета. Проект заключения принимается единогласно).*

Ну что, поздравим диссертанта с блестящей защитой.

Председатель диссертационного совета  
Академик РАН

Иванов В.Т.

Ученый секретарь диссертационного совета  
Доктор физико-математических наук



Олейников В.А.