

## **СТЕНОГРАММА**

Заседания Диссертационного совета 24.1.037.01

На базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

Российской академии наук

от 27 октября 2021 года

Защита диссертации

на соискание ученой степени кандидата химических наук

**Назарова Антона Сергеевича**

**По теме: «Поиск новых биологически активных соединений с помощью  
подходов ультравысокопроизводительного скрининга»**

Специальность: 1.5.6 – Биотехнология

## Стенограмма

заседания диссертационного совета 24.1.037.01 на базе Федерального государственного учреждения науки Института биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук от 27 октября 2021 года

Председатель  
диссертационного совета академик РАН, д.х.н. Иванов Вадим Тихонович

Ученый секретарь  
диссертационного совета д.ф.-м.н. Олейников Владимир Александрович

Из 30 членов диссертационного совета присутствует 21 человек, из них докторов наук по профилю диссертации – 8.

- |     |                        |                                  |         |
|-----|------------------------|----------------------------------|---------|
| 1.  | Академик РАН, д.х.н.   | Иванов Вадим Тихонович           | (1.4.9) |
| 2.  | Член-корр. РАН, д.х.н. | Липкин Валерий Михайлович        | (1.5.6) |
| 3.  | Д.физ.-мат.н.          | Олейников Владимир Александрович | (1.5.6) |
| 4.  | Д.б.н.                 | Ажикина Татьяна Леодоровна       | (1.5.3) |
| 5.  | Д.х.н.                 | Безуглов Владимир Виленович      | (1.5.6) |
| 6.  | Д.х.н.                 | Бовин Николай Владимирович       | (1.5.6) |
| 7.  | Академик РАН, д.х.н.   | Габибов Александр Габибович      | (1.5.6) |
| 8.  | Академик РАН, д.б.н.   | Деев Сергей Михайлович           | (1.5.3) |
| 9.  | Д.б.н.                 | Долгих Дмитрий Александрович     | (1.5.3) |
| 10. | Академик РАН, д.х.н.   | Донцова Ольга Анатольевна        | (1.5.3) |
| 11. | Член-корр. РАН, д.б.н. | Завриев Сергей Кириакович        | (1.5.6) |
| 12. | Д.б.н.                 | Зарайский Андрей Георгиевич      | (1.5.3) |
| 13. | Д.х.н.                 | Зубов Виталий Павлович           | (1.5.6) |
| 14. | Д.б.н.                 | Лебедев Юрий Борисович           | (1.5.3) |
| 15. | Д.х.н.                 | Овчинникова Татьяна Владимировна | (1.4.9) |
| 16. | Д.х.н.                 | Румш Лев Давыдович               | (1.5.6) |
| 17. | Д.х.н.                 | Смирнов Иван Витальевич          | (1.4.9) |
| 18. | Д.х.н.                 | Уткин Юрий Николаевич            | (1.4.9) |
| 19. | Член-корр. РАН, д.х.н. | Цетлин Виктор Ионович            | (1.4.9) |
| 20. | Д.х.н.                 | Шапаронов Михаил Иванович        | (1.4.9) |
| 21. | Д.х.н.                 | Ямпольский Илья Викторович       | (1.4.9) |

**Иванов Вадим Тихонович:** Доброе утро всем коллегам, членам ученого совета и просто людям, принимающим участие в нашей сегодняшнем заседании, в нашей работе. У нас сегодня предлагается, я бы сказал, минималистская повестка дня, защита кандидатской диссертации, никаких утверждений, никаких сопровождающих защиту вопросов. Справимся? Не можем не справиться, поэтому давайте не будем никаких изменений вносить или может какие-то дополнения есть? Обычно все дополнения задаются заранее. Сейчас их нет. Итак, речь идет о защите кандидатской диссертации Назаровым Антоном Сергеевичем.

**Олейников Владимир Александрович:** Материалы личного дела. Значит Назаров Антон Сергеевич закончил Новосибирский государственный Университет по специальности «Биология» в 2015 году, степень бакалавр. В 2017 году Санкт-Петербургский государственный Университет по специальности «Биология» с присвоением степени Магистра. В 2017 году по настоящее время Инженер исследователь в лаборатории биокатализа нашего института. Кандидатский экзамен по специальности «Биотехнология» отлично. Работа выполнена в лаборатории биокатализа нашего института научный руководитель диссертационной работы старший научный сотрудник Терехов Станислав Сергеевич. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в рецензируемых научных изданиях и один патент имеется. Объявление о защите реферата диссертации размещены на сайте вовремя, а именно 16 июля 2021 года и все необходимые документы в деле есть.

**Иванов Вадим Тихонович:** То есть в полне приличное, благополучное дело, есть какие-то уточнения? Замечания? Дополнения? Не должно быть, их и нет. Спасибо, тогда переходим к защите. Антон Сергеевич, Вы готовы? Двадцать минут на доклад.

**Назаров Антон Сергеевич:** *(Излагает основные положения диссертационной работы).*

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо за доклад. Давайте перейдем к обсуждению. У кого есть вопросы? У меня первый вопрос. Вот в заголовке, в названии диссертации есть фраза «Поиск новых биологически активных соединений», я понял, что Вы увидели там Амикумацин.

**Назаров Антон Сергеевич:** Да.

**Иванов Вадим Тихонович:** Это оригинальный антибиотик? Он был известен для Вас или не был?

**Назаров Антон Сергеевич:** Амикумацин он был известен, он был открыт.

**Иванов Вадим Тихонович:** Значит, это не новое соединение. А что еще кроме Амикумацина Вы обнаруживали?

**Назаров Антон Сергеевич:** Киназу AmiN и фосфатазу AmiO. Это биологически активные соединения. Собственно это один из вопросов, который мне задали оппоненты.

**Иванов Вадим Тихонович:** Ну, просто у меня такое ощущение, что основная работа связана с механизмом синтеза Амикумацина с его метаболизмом, механизмом может быть действия, а не с поиском новых соединений. Вот у меня такое ощущение. Может быть я ошибаюсь, но тем не менее я просто фиксирую этот факт. Ну Вы ответили на мой вопрос, то есть Амикумацин был известен до.

**Назаров Антон Сергеевич:** Да. А киназа AmiN и фосфатаза AmiO были открыты впервые.

**Иванов Вадим Тихонович:** Понятно. У кого еще есть вопросы? Прошу. Давайте микрофон, если можно.

**Долгих Владимир Александрович:** Я погромче, если можно, скажу. Известен ли механизм действия Амикумацина? Что-то по этому поводу можете сказать?

**Назаров Антон Сергеевич:** Механизм действия известен, он является трансляционным ингибитором и образует комплекс с мРНК и рибосомной РНК, предотвращая движение мРНК по рибосоме.

**Долгих Владимир Александрович:** Спасибо.

**Бовин Николай Владимирович:** У меня продолжение к вопросу. Раз этот антибиотик был известен уже до ваших исследований, Вы не могли бы кратко прокомментировать его так сказать естественную историю? Как он применяется, какие у него недостатки и преимущества? То есть какое место этот антибиотик занимает в, скажем так, медицине?

**Назаров Антон Сергеевич:** Хорошо, итак. Снова скажу, что это был похожий вопрос задал мне оппонент и я думаю одновременно отвечу на все. Антибиотик Амикумацин был открыт в 1981 году и тогда же была определена его структура. После чего был измерен спектр его резистентности по отношению к некоторым штаммам, но не так подробно, как это сделали мы. Было известно, что по отношению к *Helicobacter*, что было важно и исследования в этой области проводились, и был определен механизм действия. Тем не менее также некоторыми исследователями было показано, что Амикумацин может переходить в неактивное состояние, но детально этот процесс не был исследован. В то же время, мы провели детальное исследование механизма его биосинтеза, открыли его механизм резистентности и реактивации, за счет активности киназы AmiN и фосфатазы AmiO, открыт молекулярный механизм регуляции активности и проведена детализация ландшафта антибактериальной активности амикумацина. Раньше, как я говорил, был

оценен спектр резистенции амикумацина, но в куда меньшей степени, чем это сделали мы. Мы это провели в таком широкомасштабном формате. Кроме того, мы исследовали устойчивость амикумацина в различных условиях и показали, что он гидролизует в свою неактивную форму AmiV через промежуточные соединения AmiC при щелочных значениях pH. Тем не менее, также нами было установлено, что амикумацин обладает ярко выраженными антибиотическими свойствами, которые позволяют его использовать как в микробиологических исследованиях и в экспериментах по селекции рекомбинантных штаммов, которые экспрессируют киназу AmiN, так и в биохимических исследованиях.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо, есть еще вопросы?

**Бовин Николай Владимирович:** Я спрашивал не про то, что Вы сделали, а то что известно про этот антибиотик до Вас? Какое место этот антибиотик занимает в мировой практике именно как антибиотик, как лекарственное средство?

**Назаров Антон Сергеевич:** Как лекарственное средство его не используют ввиду, как я сказал его ограниченной стабильности. Тем не менее мы работаем даже сейчас в направлении улучшения его стабильности в различных условиях pH и добились определенных успехов, которые я пока не могу комментировать, поскольку они не опубликованы. Но мы ведем работу в этом направлении и успехи есть.

**Деев Сергей Михайлович:** Вадим Тихонович, можно вопрос, да?

**Иванов Вадим Тихонович:** Да, конечно.

**Деев Сергей Михайлович:** Это фундаментальная работа. Я бы хотел услышать от Вас подробнее о субстратной специфичности Амикумацина и есть ли у него еще какие-либо лишения? Я имею ввиду как фермента. Ферментная активность.

**Назаров Антон Сергеевич:** Он, как я сказал, проявляет ферментативную активность по отношению к структурно родственными соединениям, но она во-первых, как я сказал, снижена на два порядка в условиях насыщения фермента субстратом, но в таких условиях происходит процесс самоингибирования киназы AmiN. То есть по сути между максимальной активностью по отношению к амикумацину и структурно родственными соединениям находится разница активности в 4 порядка. То есть мы наблюдаем активность, но можем смело сказать, что киназа AmiN очень специфична к своему субстрату.

**Иванов Вадим Тихонович:** Есть ли еще вопросы?

**Деев Сергей Михайлович:** Можно продолжение? А к высоким молекулярным соединениям она специфична?

**Назаров Антон Сергеевич:** Да, специфична. Мы обнаружили наличие протеинкиназной активности, но она еще более низкая даже по сравнению с низкомолекулярными структурно родственными соединениями. Тем не менее такая активность у нее присутствует. То есть киназа Am1N является сериновой протеинкиназой. Она обладает такой активностью.

**Иванов Вадим Тихонович:** Вопросы иссякли или есть еще? Не вижу. Спасибо. Тогда можете пока отдохнуть. Продолжим наше обсуждение. Дальше имеет право выступить на данном этапе научный руководитель, если у него есть такое желание. Просим. Станислав Сергеевич Терехов.

**Терехов Станислав Сергеевич:** Добрый день глубокоуважаемые коллеги, я очень рад, что сегодняшний день наконец-то настал. Антон мой первый аспирант, который защищается и, говоря, что первый блин комом, я считаю, что это совсем не так. Антон проделал огромный путь, я считаю, потому что я наверное это уже говорил, но еще раз повторю, что он пришел к нам уже в аспирантуру. Что довольно редкий случай для нашей лаборатории. Потому что мы обычно берём студентов. Потом воспитываем из них более-менее таких квалифицированных сотрудников, которые уже делают аспирантуру. Но, вот, перед Антоном лежала такая сложная задача, что надо было очень быстро освоить очень много методов. Причём сделать это на очень высоком уровне. И он с ними справился, он всё смог. Он прошёл через клонирование, экспрессию и выделение белков, там, различных в огромных количествах, чтобы сделать кристаллизацию, все эти эксперименты. Потому что это, ну, такие, достаточно объёмные работы. Вот. И я считаю, что он стал таким сформировавшимся молодым учёным и готов ворваться в дальнейшую научную жизнь. И я ему желаю максимальных успехов и чтобы у него всё получалось всегда!

**Иванов Вадим Тихонович:** Всё ясно. Спасибо!

**Терехов Станислав Сергеевич:** Спасибо!

**Иванов Вадим Тихонович:** У нас есть некие отзывы, которые мы должны заслушать. Слушаем Владимира Александровича.

**Олейников Владимир Александрович:** *(зачитывает заключение организации, где выполнялась диссертация, заключение положительное).* Да. Ну, во-первых, отзыв-заключение организации, где выполнялась работа. А работа выполнялась в нашем институте. И, соответственно, некие биографические данные, о которых уже говорили.

Что пятнадцатый год - это бакалавриат, это Новосибирский университет. Дальше магистратура - это Санкт-Петербургский университет. Аспирантура с семнадцатого по настоящее фактически время, по двадцать первый год - это наш институт. Кандидатская диссертация. Кандидатские экзамены и справка выдана в двадцать первом году. Тема утверждена довольно давно, ещё в семнадцатом году, в нашем институте, на заседании учёного совета. Руководитель только что выступал - Терехов Станислав Сергеевич. Рассмотрена работа на семинаре отдела. Выполнена у нас, рассмотрена на семинаре отдела пептидно-белковых технологий в нашем институте. Ну и подчёркивается, что тема актуальна, поскольку неуклонный рост числа случаев возникновения резистентности у бактерий привёл к необходимости получения новых антибиотиков в очень короткие сроки. Ну и тут ключевые моменты, ключевые слова: высокопроизводительное секвенирование, биоинформатический анализ, ультравысокопроизводительный микрофлюидный скрининг. Что, как раз, и подчёркивает актуальность данной работы как по направлению, так и по методам используемым. Новизна. Ну, впервые проведён скрининг микробиоты ротовой полости сибирского бурого медведя. Личное участие, личный вклад Назарова представлен. Диссертационная работа заключалась в проведении микрофлюидного скрининга ультравысокопроизводительного, молекулярное клонирование, экспрессия, очистка рекомбинантных, вот этих вот белков. Он занимался обработкой и интерпретацией полученных экспериментальных данных, подготовкой материалов к научной публикации. Степень достоверности не вызывает сомнений, подчёркивается в этом заключении. Практическая значимость: разработанная ультравысокопроизводительная платформа является жизненно необходимым инструментом поиска антибиотиков, способных противостоять быстро распространяющимся мультирезистентным бактериям. Специальности 1.5.6 - "биотехнология" соответствует. Результаты работы опубликованы в трёх статьях научных журналов. И далее идёт "результаты проведённых исследований". Ну это, по существу, то, о чём мы только что говорили, то, что мы слышали. И, исходя из вышеизложенного, можно заключить, что работа является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальных проблем, имеющих существенное значение для развития биохимии и биотехнологии. Прошла проверку на оригинальность, отсутствие заимствований. И, как вывод, работа рекомендуется к защите на соискание учёной степени "кандидат химических наук" по специальности 1.5.6 - "биотехнология". Это рассмотрено на семинаре, как я уже сказал, отдела пептидно-белковых технологий. Председатель семинара Иванов Вадим Тихонович. Соответственно Ямпольский И.В.

подписал заключение, утверждено директором нашего института академиком Александром Габибовичем Габибовым.

(Зачитывает отзыв ведущей организации. Отзыв положительный). Теперь по поводу отзыва ведущей организации. Ведущей организацией является Институт биологии гена Российской академии наук. Отзыв полностью положительный, опять же подчёркивается актуальность исследования то, что посвящена поиску новых антимикробных соединений, необходимость этого поиска подчёркивается. В целом результаты работы автора вносят существенный вклад в понимание механизма работы и регуляции нового антимикробного соединения. Далее про структуру, 116 страниц, 40 рисунков, 102 цитированные работы, содержание, ну опять же подчёркивается, что есть введение, где представлено обоснование важности темы исследования, обзор литературы содержит сведения необходимые для понимания работы, в разделе «Материалы» имеются работы, выполненные с использованием самых современных методов исследований статистических подходов, что позволяет не сомневаться в достоверности полученных результатов. «Результаты и обсуждение»: представлены полученные результаты, их анализ, но это опять же, так сказать, подчёркивается, что создан дизайн системы, позволяющий анализировать способность различных штаммов из ротовой полости медведя снижать жизнеспособность патогенного *S.aureus*. Ну и далее достаточно подробно опять же изложено то, что было сделано в данной работе. Выводы сформулированы чётко и обосновано, вытекают из цели исследования, автореферат содержит все необходимые данные о поставленной научной задаче, о её решении в рамках данной работы. Новизна: в настоящей работе был впервые проведён скрининг микробиоты ротовой полости сибирского бурого медведя. Значимость теоретическая и практическая: данная работа показывает, что ультравысокопроизводительная микрофлюидная платформа является высокоэффективным инструментом поиска новых антимикробных соединений среди представителей различных экзотических бактериальных сообществ. Замечания по работе: работа не лишена недостатков, однако они касаются её оформления, а не существа работы, в работе встречаются неудачные выражения, опечатки, очень неконкретно название работы, но это не умаляет её достоинств. Всё по замечаниям. Ну и в заключение говорится, что работа Назарова Антона Сергеевича «Поиск новых биологически активных соединений с помощью подходов ультравысокопроизводительного скрининга» представлена на соискании учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология, является завершённой научно-квалификационной работой, которая по своей новизне, актуальности и достоверности полностью соответствует критериям, установленным «Положением о



присуждении учёных степеней», далее перечисляются постановления Правительства, на которые ссылается вот это положение, и автор работы Назаров Антон Сергеевич заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология. Отзыв обсуждён и утверждён на семинаре лаборатории молекулярной иммуногенетики рака, и подготовлен Яшиным Денисом Владимировичем, доктором биологических наук, и утверждён директором Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук, академиком Георгиевым П.Г.

**Иванов Вадим Тихонович:** А есть ли отзывы на автореферат диссертации.

**Олейников Владимир Александрович:** На диссертацию, на автореферат отзывы в диссертационный совет не поступали.

**Иванов Вадим Тихонович:** Не поступало добавочно. Всё ясно. Тогда мы должны заслушать официальных оппонентов. Даю слово Демидкиной Татьяне Викторовне.

**Демидкина Татьяна Викторовна:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный)*. Спасибо, глубокоуважаемый Вадим Тихонович, глубокоуважаемые коллеги. Работа Антона Сергеевича производит очень большое впечатление колоссальным объёмом проделанных экспериментов и новизной и важностью полученных, новизной и важностью полученных результатов. И я должна сказать, что я считаю, что полученные результаты и объём проведённых экспериментов могли бы являться предметом не одной диссертации, представленной на соискание учёной степени кандидата наук, а двух.

Ну, я постараюсь это проиллюстрировать примерами. Извините. Если мы посмотрим на вывод 2, он звучит так: «Разработана технология глубокого функционального профилирования бактериальных сообществ, позволяющая осуществлять персонафицированный скрининг антибиотикорезистентности». Разработанная платформа позволила детализировать спектр активности Am<sub>i</sub>. Значит для того, чтобы исследовать спектр активности, нужны были очень большие количества антибиотика, и с этой целью, значит, Антон Сергеевич модифицировал условия культивирования бактерий и очистки амикумацина, он был получен в достаточных количествах и с высоким выходом. Это не маленькая часть работы и, наверное, это подтверждается тем, что на эту часть работы получен патент. Авторов я не буду перечислять, называется он «Способ получения антибиотика амикумацина А». Значит, в этом выводе 2 по крайней мере можно было сделать три вывода из того, что заключается в выводе работы 2.

Ну, вывод 3: «С помощью полногеномного секвенирования и биоинформатического анализа генома идентифицирован кластер генов биосинтеза *Ami*, включающий два ранее неизвестных фермента *AmiN* и *AmiO*. Показано, что киназа *AmiN* инактивирует *Ami* в результате его фосфорилирования, в то время как фосфатаза *AmiO* участвует в последующей реактивации *Ami*, дефосфорилируя фосфопроизводное *Ami*». Значит, в этом выводе содержится то, что гены двух ферментов были клонированы, экспрессированы, получены гомогенные рекомбинантные ферменты, и реакционная специфичность *AmiN* была доказана экспрессией в других клетках, в клетках *Bacillus subtilis*, в клетках *E. coli* и в клетках млекопитающих. Это тоже отдельная и очень трудоёмкая работа.

Ну, наверное, огромное количество работы и разнообразие методов, которое тоже удивляет и впечатляет, которое было использовано для этой работы, привели к тому, что текст диссертации, так же, как и выводы, написан, ну я бы сказала, широкими мозгами. В качестве примера могу привести то, что, значит, клонирование гена киназы, очистка фермента описаны единственной фразой, имеющейся на странице 72: «Для подтверждения функциональной активности киназы *AmiN* и фосфатазы *AmiO* они были получены в виде рекомбинантных ферментов в клетках *E. coli*». That's it. Это всё, что сказано про клонирование, экспрессию, получение ферментов в гомогенном виде.

Ну и, может быть, другой пример. Значит, для исследования функции остатков активного центра, извините, киназы, Антоном Сергеевичем были получены 9 мутантных форм фермента. Для них были исследованы кинетические параметры. По этому поводу на странице 90 имеется опять-таки имеется единственная фраза: «Для валидации предполагаемых функций аминокислотных остатков, необходимых для обеспечения катализа, был проведён аланиновый скрининг активного центра *AmiN*». То есть результаты изложены очень кратко, обсуждение вполне удовлетворительно.

Но я должна сказать, что вот лапидарность изложения текста находится в обратном соотношении с тщательностью, с какой выполнялась эта работа. Ну примером может служить исследование, скрупулёзное исследование субстратной специфичности киназы, в частности вот субстратная специфичность была использована, как субстраты были использованы и пептиды комбинаторной библиотеки, 183 пептида. Ну, это очень, опять же, большой объём работы. Или, например, мне было очень приятно, что значение минимальных ингибирующих концентраций, полученное с использованием метода микрофлюидного, они были подтверждены стандартным методом серийных разведений. Это говорит о тщательности и критическом отношении к собственным результатам, присущем этой диссертационной работе.

Конечно, одним из основных результатов является обнаружение гена двух ферментов и всестороннее исследование киназы, которое завершается предлагаемым Антоном Сергеевичем механизмом действия. Насколько я знаю, Антон Сергеевич участвовал на всех этапах этой работы, в том числе и при получении кристаллов комплексов киназы с аналогом АТФ, АТФ и, да, с АТФ и с аналогом АТФ. То есть я считаю, что вот работа по клонированию гена и исследованию кинетических свойств, оканчивающаяся предложением механизма действия фермента – это могло бы быть вот предметом второй диссертации.

Дальше я должна соблюсти какие-то формальные вещи и, заключая, могу сказать, что диссертационная работа выполнена с применением самых современных методов физико-химической биологии и свидетельствует о высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Текст работы написан грамотным языком, это на самом деле так, минимальное количество опечаток и минимальное количество англицизмов. Автореферат диссертации полностью отражает её содержание. Результаты диссертационной работы опубликованы в трёх ведущих международных журналах и доложены на отечественных и международных конференциях.

Несмотря на несомненные достоинства работы, ниже приводятся некоторые замечания, касающиеся её оформления: 1. Название диссертационной работы считаю неудачным, оно слишком общее. 2. Для новых киназы и фосфатазы нужно было привести классификационные номера, но они были приведены уже Антоном Сергеевичем в докладе. 3. Определённое в работе значение МИК для ряда бактерий не сравниваются с опубликованными ранее другими исследователями. 4. Название ферментов (*перечисляются страницы*) не соответствует рекомендациям комиссии по классификации и номенклатуре ферментов. 5. В списке цитируемой литературы названия микроорганизмов не выделены курсивом.

Перечисленные недостатки касаются лишь оформления работы, ничуть не умаляя её актуальность, новизну и научную значимость. Диссертация Антона Сергеевича Назарова по объёму уровня выполнения и актуальности полученных результатов полностью соответствует критериям, установленным Положением (я не буду дальше зачитывать). Антон Сергеевич Назаров, несомненно, заслуживает присвоения степени кандидата химических наук по специальности «Биотехнология». Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Диссертант может ответить на вопросы, не только может, наверное, обязан ответить. Антон Сергеевич, Вам слово.

**Назаров Антон Сергеевич:** Так, а можно включить презентацию. Спасибо. Так. Отвечая на первое замечание об обобщённости названия: да, я согласен с этим замечанием, название действительно обобщённое. Тем не менее, поскольку проект, на основании данных которого была написана эта диссертация был комплексным и включал несколько целей и множество задач, которые были обобщены с помощью такого названия, так, исследование включало микрофлюидный скрининг микробиоты, характеризацию штамма, продуцирующего антимикробные соединения, его идентификацию, персонализированное исследования ландшафта антибиотикорезистентности, исследование метаболизма антимикробного соединения и идентификацию механизма резистентности. Таким образом, такое общее название позволило нам объединить все эти цели. Да, скажем так.

Так, второе и третье, соответственно, замечание я исправил, то есть, да, здесь показаны номера Enzyme Classification, а также исправлены названия ферментов на рекомендованные. Это ответ на замечание. Действительно, мы в своей работе, ну, в тексте диссертации не указали, что наши данные соответствуют данным, полученным другими исследованиями. Тем не менее, сейчас я представляю эти данные, мы в своих исследованиях опирались на результаты других исследований, и значения минимальной ингибирующей концентрация для отдельных штаммов, а также для видов бактерий соответствуют тем, что получены нами и другими исследованиями.

Ну а пятый, пятое замечание насчёт курсива, это тоже согласен, это техническая ошибка, автоматически программа забыла указать курсив и всё, вернее, программа сделала, а я не поправил. Прошу прощения.

**Иванов Вадим Тихонович:** Всё у Вас, да?

**Назаров Антон Сергеевич:** Да.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Теперь мы должны заслушать ещё одного официального оппонента, Анастасия Александровна Пометун. Это у нас Федеральный центр «Фундаментальные основы биотехнологии».

**Иванов Вадим Тихонович:** Слушаем внимательно.

**Пометун Анастасия Александровна:** *(Излагает отзыв. Отзыв положительный).*  
Добрый день, глубокоуважаемые коллеги. Мне кажется, мы заслушали сейчас очень интересную работу, и я сейчас остановлюсь на некоторых моментах.

**Иванов Вадим Тихонович:** Чуть ближе к микрофону, пожалуйста.

**Пометун Анастасия Александровна:** Да, конечно, да. Так нормально? Сейчас я остановлюсь на некоторых её особенностях. Ну, прежде всего, я хотела бы сказать, что мне работа очень понравилась, она действительно производит очень положительные впечатления, конечно же, прежде всего, своим объёмом, о чём было уже сказано в предыдущем отзыве, и своим огромным спектром работ. Также, конечно же, не вызывает никакого сомнения актуальность поставленной задачи и, соответственно, выполненной работы. Значит, исследование имеет обоснованный экспериментальный план, который разделён на логичные этапы, необходимые для достижения конечного результата. Я не буду перечислять методы работы, которые диссертант использовал, они уже были перечислены ни раз, и все мы видим их большой объём и значимость. Ну, хотелось бы отметить, что диссертационная работа построена по традиционному плану, значит, содержит множество ссылок, диссертационный текст изложен на 116 страницах. Мне также хотелось бы отметить, что текст изложен очень коротко, о чём я ещё скажу чуть далее.

Значит, в разделе обзора литературы описана история открытия антибиотиков и антибактериальных препаратов, а также различные платформы для открытия и идентификации классов этих соединений, значит, описание методик подробно дано в разделе «Материалы и методы», они очень грамотно разделены, что действительно позволяет читателю оценить объём методов, и как бы нет никаких сомнений, что эти методики достоверны. Значит, достаточно подробно также описана работа также с микрофлюидной платформой, а также метод работы с белковыми структурами.

Значит, раздел «Результаты и их обсуждения» состоит из нескольких частей: это идентификация штаммов, соответственно, работа с платформой, работа с белками, также структурные исследования полученных белков. Значит, выводы, 5 выводов соответствуют сопоставленным в начале работы задачам, вполне отражают содержание работы и позволяют считать цель вполне достигнутой. По теме диссертации автором в соавторстве опубликовано 3 статьи в рецензируемых журналах.

Значит, теперь я хотела бы остановиться на вопросах и замечаниях. В обзоре литературы много внимания уделено платформам для поиска соединений, обладающих антимикробной активностью, а также классам таких соединений. При этом практически нет информации об антибиотике амикумацине, которому посвящена значительная часть экспериментальной работы, а хотя это соединение было ещё известно с 80-х гг. прошлого столетия. Я действительно была очень удивлена, что нет такой информации, но об этом

уже был задан вопрос, и диссертант, собственно, на него, ну, ответил. Просто странно, что в работе в самой этой информации нет.

В разделе «Результаты и их обсуждения» автор предлагает использовать амикумацин для биологических и биохимических исследований, при этом, опять же, нет данных о стабильности этого соединения, хотя этот параметр является важным, и автор, кроме того, в докладе отметил, что низкая стабильность этого соединения является одним из таких краеугольных моментов использования этого вещества в качестве препарата антибактериального. Из основного текста работы, а также аннотации и выводов следует, что амикумацин проявляет активность в отношении золотистого стафилококка, при этом на рисунках 12, 13 нет штаммов *Staphylococcus aureus*, в то время как на рисунке 14 работы *Staphylococcus aureus* присутствует среди штаммов, минимальная ингибирующая концентрация в котором составляет менее 1 мг на мл. Хотелось бы понять, какой именно эксперимент в данной работе доказывает наличие антибиотической активности амикумацина по отношению к репортерной патогенной бактерии *Staphylococcus aureus*.

Также я хотела бы отметить, что в разделе 3.6 описывается аланиновый скрининг киназы, указаны номера остатков, подверженных мутагенезу. Это действительно очень большая часть работы, которой уделено очень мало внимания. Значит, автором установлено, что при замене некоторых остатков наблюдается полная потеря активности, а у других аминокислотных остатков такой эффект не наблюдается. Ну, хотелось бы больше информации по этому вопросу и вообще, для упрощения восприятия результатов, было бы хорошо представить эти данные в виде чисел в таблице.

Ну, также в качестве незначительного замечания следует отметить, что работа содержит всё-таки достаточное количество опечаток и некоторое количество ошибок в написании слов и пунктуации. Хотелось бы сказать, что вышесказанные замечания, конечно же, не носят принципиального характера и не умаляют достоинство работы. Ну и я сейчас зачитаю заключение: «Диссертационное исследование Назарова Антона Сергеевича «Поиск новых биологически активных соединений с помощью подходов высокопроизводительного скрининга», выполненное под руководством Терехова Станислава Сергеевича, является законченной научной квалификационной работой. По своей новизне, актуальности и достоверности работа Назарова Антона Сергеевича полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, согласно соответствующему Положению (номера я зачитывать не буду). Автор Назаров Антон Сергеевич заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Я, наверное, прозевал, может быть. Там были замечания, на которые нужно отвечать? Были. Значит прошу ответить на них.

**Назаров Антон Сергеевич:** Так. На первые два замечания я, как думаю, уже ответил. Что касается третьего, о том, что на данном рисунке золотистый стафилококк отсутствует, на данном рисунке есть. Это объясняется тем, что в данном эксперименте мы провели, исследовали чувствительность к амикумацину, конкретные источники, а именно микробиота ротовой полости медведя, фекальная микробиота людей, больных колитом и здоровых доноров. И в этих образцах, соответственно, золотистый стафилококк отсутствовал, а данный рисунок представляет уже суммарные данные о чувствительности к амикумацину у всех исследованных источников, включая исследованные отдельные бактериальные изоляты. Поэтому на суммарной таблице здесь уже стафилококк присутствует.

И последнее замечание. Да, согласен, что следовало бы представить данные не только о том, ну, не только структурные данные, чтобы показать как бы пространственное расположение аминокислотных остатков, но и таблицу. И я провожу её на данном рисунке. Она у нас есть, конечно, в статье, и да, к сожалению, я её не включил в текст диссертации, но исправляюсь на докладе.

**Иванов Вадим Тихонович:** У Вас всё?

**Назаров Антон Сергеевич:** Да, всё. Ну, то есть здесь представлены сами остатки, которые подвергались мутагенезу, и тепловая карта и соответствующие значения МИК, минимальной ингибирующей концентрации штаммов, которые экспрессировали данные мутанты. Всё.

**Иванов Вадим Тихонович:** Всё, спасибо. Мы заслушали мнение официальных оппонентов, аргументы, оба оппонента рекомендуют принять положительно и проголосовать за данную работу, и они её положительно оценивают. Кто ещё хотел бы принять участие в дискуссии? У нас открывается общая дискуссия, и все могут высказать свои аргументы, давайте начнём с Вас.

**Деев Сергей Михайлович:** Коллеги, ну, мне очень понравилась защита, получил большое удовольствие. Значит, что хотел бы сказать. На самом деле, два основных результата, которые мы услышали, вот первый – это развитие очень важной, очень интересной вот этой микрофлюидной технологии, которая в самых разных направлениях открывает очень большие возможности, это сделано классно. Второй результат, вот тут как-то было очень много вопросов, вот, тяжёлая ситуация у исследователей, которые

делают что-то очень важное и полезное. Ну, например, если там создаётся какое-то, разрабатывается противораковое соединение, очень часто из зала вопрос: «а сколько людей вы уже вылечили?» Вот, так же тут, как антибиотик, вот насколько он новый. Тут вот я бы сделал акцент на втором основном результате, что мы услышали очень классную энзимологию вот механизма, фундаментальные аспекты механизма действия этого фермента, которые очень важны для понимания антибиотикорезистентности, как это протекает.

Поэтому эта работа имеет, на мой взгляд, очень большой фундаментальный характер, большие перспективы для развития, значит, новых антибиотиков, понимания механизма антибиотикорезистентности. Ну, на мой взгляд, прослушали отличную суперклассную работу, которая, конечно, заслуживает присуждения искомой степени. Спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Виктор Ионович.

**Цетлин Виктор Ионович:** Я рад, что сегодняшняя защита – это единственный топик нашего диссертационного совета, и она действительно этого заслуживает. Значит, мне понравилось, что диссертант, у него было как бы двойное образование, Новосибирск, Санкт-Петербург, и потом он попал к нам. И здесь я хочу сказать, что вот, скажем так, как ветеран научного труда, я хочу отметить одну вещь, что это очень классно, что после вот этого пути, Новосибирск, Петербург, он пришёл в Институт биоорганической химии, что есть такой институт и есть такая лаборатория, где вот эта сумма методов, которую он использовал, она возможна.

Это громадный труд, и я просто был удивлён, как это могло быть сделано. Татьяна Викторовна совершенно справедливо заметила, что похоже в этой одной диссертации как минимум две диссертации, но в этом упрекать не надо, и поэтому вот именно широта исследований... Да, ещё хочу отметить одну вещь. Если сравнить... Не то, что вот всё совсем изменилось, но мы помним, скажем, я могу вспомнить свою кандидатскую диссертацию, когда трудно было там какой-нибудь растворитель достать, приборы были, так сказать, не самые свежие. Когда вот это всё есть, когда это есть, то есть способы приложения ярким, новым силам. Так что я очень сильно, очень сильно был, так сказать, не потрясён, а взволнован, получил удовольствие от этой диссертации. Конечно, с громадным удовольствием проголосую «за», и не сомневаюсь, что присутствующие здесь, довольно много народу, они сделают, члены диссертационного совета, они сделают то же самое. Спасибо.



**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Кто ещё хотел бы выступить? Александр Габирович, прошу.

**Габиров Александр Габирович:** Ну, наверное, значит, поскольку всё-таки руководитель Станислав Сергеевич, но это был мой аспирант, потому что я вот считаю, что руководителями аспирантов должны быть доктора наук, ну вот учёный совет меня поправил, и люди, которые, учёные, которые молодые, которые имеют грант РФФИ. Но в данном случае так и случилось, Стас получил грант РФФИ, я с удовольствием передал Антона Сергеевича в лоно внимания Станислава непосредственно.

Я должен сказать, не знаю, может быть, понравится или нет, ну, уже с высоты тоже своих определённых лет я должен сказать, что, я буду говорить о диссертанте, значит, мне было очень приятно, мы встретились в Петербурге, два вот приятеля, второй тоже будет защищаться. И они сказали, что хотят работать в нашем институте и конкретно в моей лаборатории, в кабинет моей супруги пришли. Они выдержали экзамен оба, у нас был, я по-доброму всегда отношусь, но мои молодые сотрудники устроили им такой сложный экзамен, они его выдержали, неформальный, и вот включились в работу. И в общем результатом этой работы стало, конечно, выполнение обоими, вот, ждёт публикации, значит, второй аспирант из этой, так сказать, серии. Значит, они вот смогли, ну, не досрочно, но, скажем, в рамках, по-моему, диссертационного вот этого марафона трёх лет, да, четырёх лет, выполнить эту работу.

Ну, я должен сказать, что Антон в общем человек способный, и мне было приятно с ним работать, но так, не открывая все персональные детали, конечно, человек очень тонкой такой душевной натуры и довольно обидчивый, вот, а учёные – люди очень сложные. Я надеюсь, что в будущей своей жизни он будет более спокойно относиться к критическим замечаниям руководителей среднего и высшего звена. Я очень рад, что, значит, вот Антон этот марафон прошёл с честью.

Значит, о диссертации мне, наверное, неудобно говорить, потому что всё-таки так, ну, говоря с определённой долей скромности, во многих работах я принимал, так скажем, мягко, активное участие. Но всё-таки я скажу, что, конечно, вот корреспондируя с мнением Виктора Ионовича, значит, конечно, в общем-то в работе открыт новый фермент и Александр Алексеевич, вот наш учитель, мой Сергей Михайлович и Татьяна Викторовна, наверное, был бы рад, он всегда радовался открытию новых ферментов, приписывал как раз вот эти классификационные параметры, которые Антон не очень хорошо, так сказать, учёл. Открыт новый фермент, да, конечно, киназа и исследована, вот,

показана её широкая специфичность и удивительно узкая специфичность по отношению вот этого фермента, у этого антибиотика, вот.

Ну, конечно, развитие платформы. Я должен сказать, что у Антона, мне кажется, очень хорошее будущее, если он будет прислушиваться к мнению коллег, будет более, так сказать, вот, открыт для дискуссий, но человек действительно способный, я в общем принимал участие в его подготовке, уже на финальных стадиях тоже защиты, он в общем следовал каким-то моим рекомендациям, то есть ему слушать, свойственно слушать чужие мнения, и это хорошо, вот.

Поэтому я очень благодарен Антону за то, что он в общем моим достаточно высоким критериям соответствовал в этот период, оппонентам, вот, Татьяне Викторовне и профессору Пометун, ученица моего друга Тишкова, это в общем очень квалифицированные оппоненты в этой области. Единственно, я не согласен с мнением Татьяны Викторовны, что нужно что-то делить на двое. Я считаю, эта диссертация не выше среднего, это норма. Вот. Это моё мнение. Почему она такая объёмная, потому что, конечно, это было соединено достаточно много проектов, и понятно, что рентген, Антон это подчёркивал, снимался не им, а в EMBL с помощью вот нашей сотрудницы, но Антон принимал активнейшее участие в этом, и в моделях, и так далее. Но мне всё-таки кажется, что понижать планку в нашем институте не нужно, мы конкурируем, здесь я говорю как директор, с очень серьёзными в России учреждениями, такими как Сколково, которое вытягивает из нас, как пылесос, аспирантов и молодых сотрудников соответствующими финансовыми, так сказать, требованиями. Вот здесь сидит наш замечательный заведующий отделом профессор Донцова, которая является профессором Сколково. Кстати, я буду многословен, надо сказать, что в её работе амикумацин был, наверное, впервые очень подробно открыт и в конце 80-х гг. её работа в Mol.Cell она как раз в общем-то..., то есть мы переоткрывали, там был в земле он, Ольга Анатольевна, мне кажется, найден, да, а мы вот в пасте зверя. Вот всё-таки это очень интересно. Поэтому мне кажется, что нам очень сильно планку по диссертации нельзя опускать. Спасибо за внимание, и ещё раз спасибо всем, кто принимал участие в реализации этой работы.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Продолжая нашу дискуссию, я бы хотел, ну, некую небольшую толику внести в эту дискуссию. Я согласен, что, мы слышали великолепную работу, прекрасно исполненную и отлично доложенную. И буду голосовать, безусловно, за присуждение степени кандидата наук и всех призываю сделать то же самое. Но, тем не менее, я считаю, что здесь есть некий урок на будущее не диссертанту, а руководителям настоящим и будущим. И мне как руководителю семинара, который заслушивает многие

диссертации на предзащитах. Я имею ввиду два замечания, которые были и у ведущей организации, и у Татьяны Викторовны насчёт того, что название работы не полностью отвечает её сути. Скажем, у меня вызывает некое удивление, работа называется: Поиск новых биологических соединений с помощью ультравысокопроизводительного скрининга. Что можно ожидать? Десятки новых веществ, скрининг ультравысокопроизводительный, масса новых веществ. Мы имеем амикумадин уже известное вещество, и может быть что-то ещё, я, честно говоря, не понял. Во всяком случае, есть некое противоречие того, что мы имеем, и то, что объявлено. На самом деле сделана огромная работа по механизму биосинтеза, важного биологически активного соединения и по метаболизму его. А это не отражено в заглавии никак. Здесь какой-то поиск, поиск новых. Есть противоречие. Я считаю, что надо быть более строгим в формулировке в будущем названии представляемых на нашу защиту работ. Это вот моё замечание такое. Может кто-то ещё хотел бы выступить? Ну, я не вижу желающих больше выступить. Тогда я имею право и удовольствие дать диссертанту ещё раз выступить уже с заключительным словом. Прошу.

**Назаров Антон Сергеевич:** Так, в своём заключительном слове я хотел бы, в первую очередь, поблагодарить всех людей, которые учили меня, поддерживали, делились своим опытом и помогли в реализации как проекта, и написании данной диссертации. В первую очередь, конечно, хочу поблагодарить Станислава Сергеевича и Александра Габибовича, которые были моими руководителями, наставниками. По мимо этого хочу поблагодарить Юлиана Мокрушина и Ивана Смирнова, которые также принимали активнейшее участие во всём этом проекте и в выполнении определённых экспериментов. Также хочу поблагодарить группу Андрея Головина, это Артура Залевского и Александра Злобина. И Глеба Буренкова, который внёс значительный вклад в мою работу, это благодаря ему имеется такие все структуры в их хорошем разрешении. И также хотел бы поблагодарить своих официальных оппонентов Татьяну Викторовну и Анастасию Александровну, и Дмитрия Яшина это из ведущей организации. Всё, спасибо.

**Иванов Вадим Тихонович:** Спасибо. Мы хорошим темпом приближаемся к завершающим этапам нашей процедуры. И мы должны выбрать счётную комиссию потрудиться, у меня уже есть некое предложение. Я надеюсь, согласованное, и которое нам предстоит либо одобрить, либо не одобрить без имён, отчеств и регалий. Бовин, Цетлин, Олейников, три члена счётной комиссии, как правило, такого количества хватает для оперативного подсчёта наших голосов. Есть какие-то отводы, самоотводы и дополнения? Давайте проголосуем за данный состав. Кто поддерживает? Кто против?

Счётная комиссия избрана. Можно было бы голосовать, но я перед этим хотел бы провести предварительное обсуждение проекта заключения, которое у всех имеется. Потому что нам предстоит после объявления итогов голосования за этот проект заключения голосовать, и лучше иметь его уже полностью согласованным и подготовленным для этого. Есть какие-то замечания по поводу проекта заключения? По нашему опыту Николай Владимирович иногда какие-то замечания делает. Увы. Кажется есть, прошу. Давайте к микрофону.

**Долгих Дмитрий Александрович:** Ну я посмотрел заключение. Мне кажется всё-таки, его немножко надо подредактировать, потому что много, достаточно немало, во всяком случае, неудачных выражений и оборотов, длиннющих предложений, и некоторые из них, но вот скажем, на странице четвёртой внизу предложение, в котором всё не согласовано. Кроме того диссертантом были изучены кинетические характеристики и структурных особенностей киназы AmiN. Также показал высокую специфичность по отношению и так далее. То есть, это не единственное замечание.

**Иванов Вадим Тихонович:** Можно вместе с авторами поговорить и вместе с ними довести до удовлетворяющего вас уровня грамматики там и содержания?

**Долгих Дмитрий Александрович:** Да, конечно.

**Иванов Вадим Тихонович:** Вы не против, да?

**Долгих Дмитрий Александрович:** Конечно.

**Иванов Вадим Тихонович:** Авторы не против? Здесь я вижу руководитель и диссертант. Значит, давайте ещё мы гарантированно подкорректируем по вашим предложениям этот проект заключения и будем считать, что у нас уже есть некий вариант, за который мы готовы голосовать. Давайте ещё это вы оперативно согласуете. Может быть даже во время подсчёта голосов, может быть. Нет возражений? То есть мы будем готовы к голосованию фактически. Ну что ж тогда объявляю перерыв. Прошу не расходиться, я уверен, что подсчёт будет оперативным, быстрым, и мы сумеем подвести итог нашей работе.

*(Идет тайное голосование)*

**Олейников Владимир Александрович:** Так дорогие коллеги члены учёного совета. Счётная комиссия закончила свою работу. И мы готовы огласить. Значит, присутствовало на заседании 21 член совета, роздано бюллетеней 21, оказалось в урне 21, «за» 21, «против» и недействительных нет.

**Иванов Вадим Тихонович:** Прошу утвердить то, что мы слышали. Кто подтверждает? По-видимому, действительно нет ни «против», ни «воздержавшихся». Ну что, поздравляю с успешной защитой. Давайте поаплодируем. И, последнее, значит, мы так сказать в течении пары минут обсуждали проект заключения, там были замечания, и было уверение, что эти все замечания можно согласовывать с авторами, и это будет оперативно сделано. Давайте проголосуем за такой отредактированный проект заключения нашего совета. Кто за? Утвердили. Спасибо за вашу работу.

Председатель  
диссертационного совета

академик РАН, д.х.н. Иванов В.Т.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

