

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.027.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ»
(МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № ____

решение диссертационного совета от 23 мая 2019 г., № 2

О присуждении Злобину Николаю Евгеньевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Взаимодействие белков с доменом холодового шока растения-экстремофита *Eutrema salsugineum* с нуклеиновыми кислотами» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 13 марта 2019 г., протокол № 5, диссертационным советом Д 006.027.01, созданным на базе Федерального Государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» по адресу 127550, Москва, Тимирязевская, 42 (Приказ Министерства образования и науки Российской Федерации № 714/нк от 2 ноября 2012 г. о продлении полномочий диссертационного совета).

Соискатель Злобин Николай Евгеньевич 1990 года рождения.

В 2012 г. Злобин Николай Евгеньевич окончил Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева по специальности «Селекция и генетика сельскохозяйственных культур», присуждена квалификация ученый агроном. В период с 01.10.2012 г. по 31.09.2015 г. обучался в очной аспирантуре Федерального государственного

бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ). Справка № 146 об обучении в аспирантуре (сдаче кандидатских экзаменов) выдана 14 ноября 2018 г. ФГБНУ ВНИИСБ.

Злобин Николай Евгеньевич работает в должности научного сотрудника в лаборатории стрессоустойчивости растений ФГБНУ ВНИИСБ.

Диссертация выполнена в лаборатории стрессоустойчивости растений ФГБНУ ВНИИСБ. Научный руководитель – Бабаков Алексей Владимирович, главный научный сотрудник лаборатории стрессоустойчивости растений ФГБНУ ВНИИСБ, доктор биологических наук, профессор.

Официальные оппоненты:

1) **Северинов Константин Викторович**, доктор биологических наук (03.01.03 – Молекулярная биология), профессор, директор Центра наук о жизни Сколковского института науки и технологий (121205, Россия, г. Москва, ул. Нобеля, д. 3, Тел./факс: +7 (495) 280-14-81).

2) **Рубцов Юрий Петрович**, кандидат химических наук (02.00.10 – Биоорганическая химия), старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (117997, Россия, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10, Тел./факс: 7 (495) 335-01-00 / + 7 (495) 335-08-12).

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук (ИБ РАН) (142290, Россия, Московская область, г. Пущино ул. Институтская, 4, Тел./факс: +7 (4967) 31-84-01) в своем положительном отзыве, подписанном Лябиным Дмитрием Николаевичем, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником группы регуляции биосинтеза белка ИБ РАН, а также Овчинниковым Львом Павловичем, доктором биологических наук, профессором, академиком РАН, руководителем группы регуляции

биосинтеза белка ИБ РАН, и утвержденным Колбом Вячеславом Адамовичем, доктором биологических наук, директором ИБ РАН, указали, что диссертационная работа Злобина Николая Евгеньевича «Взаимодействие белков с доменом холодового шока растения-экстремофита *Eutrema salsugineum* с нуклеиновыми кислотами» по своей актуальности, научной новизне и теоретической значимости соответствует критериям п 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, а сам автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет 6 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 3 статьи в научных журналах из перечня ВАК, индексируемых в базе данных Web of Science и/или Scopus. Авторский вклад соискателя в опубликованных работах составляет не менее 55%. Основные результаты исследований представлены в материалах 3 всероссийских и международных конференций.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

Zlobin, N. High DNA melting activity of extremophyte *Eutrema salsugineum* cold shock domain proteins EsCSDP1 and EsCSDP3 / N. Zlobin, K. Evlakov, Y. Alekseev, K. Blagodatskikh, A. Babakov, V. Taranov // Biochemistry and biophysics reports. – 2016. – V. 5. – P. 502-508.

Zlobin, N. RNA melting and RNA chaperone activities of plant cold shock domain proteins are not correlated / N. Zlobin, K. Evlakov, O. Tikhonova, A. Babakov, V. Taranov // RNA biology. – 2018. – P. 1-7.

Таранов, В.В. Вклад доменной структуры белков с доменом холодового шока растения *Eutrema salsugineum* во взаимодействие с РНК / В.В. Таранов, **Н.Е. Злобин**, К.И. Евлаков, А.О. Шамустакимова, А.В. Бабаков // Биохимия. – 2018. – Т. 83. – С. 1688-1699.

На диссертацию и автореферат поступил 1 отзыв. Отзыв положительный. Автор отзыва, **Кочиева Елена Зауровна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории системной биологии растений ФИЦ Биотехнологии РАН, отмечает актуальность и научную новизну, высокий методический уровень работы, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, обоснованность выводов и положений, выносимых на защиту. В заключении автор отзыва указывает, что диссертационная работа отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Злобин Николай Евгеньевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии). В качестве замечаний к автореферату отмечается наличие черно-белых иллюстраций, затрудняющее их восприятие, а также опечаток.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью, многолетним опытом работы и достижениями в молекулярно-генетических исследованиях, а также биотехнологической отрасли науки. Данные специалисты способны в полной мере оценить научную и практическую ценность диссертационной работы на основании их публикаций.

Доктор биологических наук Северинов Константин Викторович является специалистом в области микробиологии, а также выполняет исследования, направленные на изучение механизмов устойчивости бактерий к различным неблагоприятным факторам среды. В рамках этих работ, в частности, проводятся исследования взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами в условиях *in vitro* и *in vivo*.

<http://www.vniisb.ru/ru/news/23160.html>

Кандидат химических наук Рубцов Юрий Петрович является специалистом в области исследования иммунной системы человека, под его руководством выполнялись работы, направленные на редактирование генома в человеческих клетках с помощью системы CRISPR/Cas9, основанной на

формировании тройственного комплекса между нуклеазой Cas9, наводящей РНК sgRNA и геномной ДНК.

<http://www.vniisb.ru/ru/news/23160.html>

В структуре ведущей организации Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук (ИБ РАН) имеется группа регуляции биосинтеза белка, основное направление которой является исследование молекулярных механизмов взаимодействия белка с доменом холодового шока YB-1 с нуклеиновыми кислотами, его биологической активности и ядерно-цитоплазматического распределения; изучение роли белка YB-1 в раковой трансформации клеток и в возникновении у них множественной лекарственной устойчивости, а также молекулярных механизмов действия белка YB-1 на развитие болезни Альцгеймера.

<http://www.vniisb.ru/ru/news/23160.html>

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненного соискателем исследования разработан способ измерения ДНК-плавающей и РНК-плавающей активностей белков с помощью искусственно синтезированных олигонуклеотидов, меченых флуоресцентными красителями, в условиях изменяющейся температуры и способ измерения РНК-шаперонной активности белков *in vitro*. Получены данные относительно вклада элементов доменной структуры белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 из растения *Eutrema salsugineum* в ДНК-плавающую и РНК-плавающую активности. Доказано наличие у белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 высокой ДНК-плавающей, а также РНК-плавающей и РНК-шаперонной активности *in vitro*; зависимость биологической активности отдельных доменов холодового шока из белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 от одиночных аминокислотных замен в N-концевой части этих белков. Построена модель взаимодействия белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 с нуклеиновыми кислотами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: применительно к проблематике диссертации результативно **использован** комплекс методов и подходов для изучения взаимодействия белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 с нуклеиновыми кислотами; **изложены** основные особенности взаимодействия белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 с нуклеиновыми кислотами; **изучено** взаимодействие белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 с искусственно синтезированными олигонуклеотидами с различной последовательностью нуклеотидов и пространственной структурой; **проведен** анализ связи полученных экспериментальных данных с функционированием белков с доменом холодового шока в растительных клетках.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: разработаны способ измерения ДНК- и РНК-плавающей активностей белков в условиях широкого спектра температур и концентраций белков и способ прямого количественного измерения РНК-шаперонной активности белков *in vitro*; **доказано** проявление белками EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 плавающей активности в отношении молекул ДНК и РНК с различной последовательностью нуклеотидов и пространственной структурой; **представлена** модель взаимодействия белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 с нуклеиновыми кислотами.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что исследование выполнено на высоком методическом уровне, характеризуется значительным объемом проведенных экспериментов, применением адекватных методик получения и обработки экспериментальных данных. Теоретические предположения о функционировании белков с доменом холодового шока в растительной клетке и об их использовании в биотехнологии построены на основе обнаруженных ДНК-, РНК-плавающей и РНК-шаперонной активностей белков EsCSDP1, EsCSDP2, EsCSDP3 и их фрагментов из растения *Eutrema salsugineum*. Высказанные в диссертации

идеи базируются на значительном объеме современной научной литературы по тематике диссертации и на собственных экспериментальных данных. Используются разнообразные методики и экспериментальные подходы. Выбранные для оценки критерии позволяют в полной мере описать взаимосвязь изучаемых явлений.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, анализе полученных данных и представлении результатов для их публикации, оформлении текста диссертации и автореферата. Большая часть экспериментальной работы выполнена соискателем самостоятельно. Соискатель непосредственно участвовал в создании генетических конструкций для наработки рекомбинантных белков в бактериальных клетках, оптимизации методики выделения и очистки белков, дизайне флуоресцентно меченных олигонуклеотидов, создании генетических конструкций для исследования активности отдельных доменов холодового шока в тесте по комплементации низкотемпературного роста бактериальных клеток, постановке экспериментов по комплементации низкотемпературного роста бактериальных клеток. Получение препаратов рекомбинантных белков и постановка экспериментов по изучению взаимодействия рекомбинантных белков с нуклеиновыми кислотами *in vitro* осуществлялись соискателем лично. Подготовку основных публикаций по выполненной работе соискатель проводил совместно с научным руководителем работы.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что:

- соблюдены установленные Положением о присуждении ученых степеней критерии, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;
- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

На заседании 23 мая 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Злобину Николаю Евгеньевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 15, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета
Д 006.027.01

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 006.027.01



П.Н. Харченко

М.Р. Халилуев

23 мая 2019 г.