

**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА**

---

**СТЕНОГРАММА**

заседания диссертационного совета МГУ03.01  
при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова  
от 20 апреля 2017 г.

**Защита диссертации  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
Астаховой Алины Анатольевны:  
«Воспалительный ответ астроцитов при их однократной и повторных стимуляциях  
липополисахаридом»,  
по специальности 03.01.03 – молекулярная биология**

**Москва, 2017 г.**

На заседании совета председательствует Морозов С.Ю., доктор биологических наук, заведующий лабораторией, Лаборатория генной инженерии вирусов, Отдел биохимии вирусов растений, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова.

Ученый секретарь диссертационного совета: кандидат биологических наук, профессор кафедры молекулярной биологии биологического факультета МГУ И.А. Крашенинников.

На заседании присутствуют следующие члены диссертационного совета:

1. Аграновский А.А.	д.б.н. 03.02.02
2. Баратова Л.А.	д.х.н. 03.01.03
3. Богданов А.А.	д.х.н. 03.01.03
4. Ванюшин Б.Ф.	д.б.н. 03.01.03
5. Дорохов Ю.Л.	д.б.н. 03.02.02
6. Калинина Н.О.	д.б.н. 03.02.02
7. Карпова О.В.	д.б.н. 03.02.02
8. Колб В.А.	д.б.н. 03.01.03
9. Крашенинников И.А.	к.б.н. 03.01.03
10. Морозов С.Ю.	д.б.н. 03.01.03
11. Равин Н.В.	д.б.н. 03.02.02
12. Разин С.В.	д.б.н. 03.01.03
13. Соловьев А.Г.	д.б.н. 03.02.02

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Уважаемые члены диссертационного совета! Сегодня в повестке дня у нас защита диссертации на соискание степени кандидата наук. Это защита Астаховой Алины Анатольевны по теме: «Воспалительный ответ астроцитов при их однократной и повторной стимуляциях липополисахаридом». Работа где выполнена? Да, в институте Белозерского. Имеются три официальных оппонента, это Горбачева Любовь Руфэлевна, доктор биологических наук, Гуляева Людмила Федоровна, доктор биологических наук и Фуралев Владимир Александрович, кандидат биологических наук. Пожалуйста, Игорь Александрович, для ознакомления с личным делом.

**И.А. КРАШЕНИННИКОВ:** (*Оглашает материалы личного дела Астаховой Алины Анатольевны и материалы предварительной экспертизы диссертации*). Диссертация была обсуждена на заседании этого подразделения в НИИ им. Белозерского, мы приняли данную работу к защите 8 февраля этого года (протокол № 3). Все. Личное дело соискателя в порядке.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Пожалуйста, ваше слово.

**А.А. АСТАХОВА:** (*Излагает основные положения диссертации*). Полученные результаты в ходе работы нам удалось обобщить в виде следующих выводов, они представлены на слайде, разрешите мне их не зачитывать. Благодарю за внимание.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Вопросы?

**Ю.Л. ДОРОХОВ:** Мне не ясен биологический смысл этой работы. Очевидно, взяв астроциты, вы явно целитесь в мозг и в его реакции, да? Но очевидно сразу, что клетки, даже первичные культуры астроцитов, которые вы получали, декапетируя, обезглавливая несчастных, кстати, почему вы, вы прошли этическую комиссию? Где у вас упоминание о протоколе, я не увидел этого. Тем не менее, ясно, что существует огромный зазор, огромный или нет, но есть зазор между реакцией первичной астроцитов, первичной культурой, и в астроцитах в мозге, и как вы оцениваете этот зазор? Это первое. Второе, как вы думаете, попадет ли туда липопротеидный комплекс – в целый мозг? И не попытались ли вы, даже в мечтах, проанализировать, будут ли реагировать на воспалительные стимулы таким же образом астроциты в мозге, как и вашей культуре?

**А.А. АСТАХОВА:** Спасибо большое за ваши вопросы. Давайте последовательно пойдем. Что касается протокола этической комиссии, насколько мне известно, для получения культур из новорожденных крысят этого не требуется, по крайней мере, из нашего опыта с зарубежными коллегами требуется разрешение на получение со взрослыми... Хорошо, этот вопрос мы еще уточним, спасибо большое.

**Ю.Л. ДОРОХОВ:** В том журнале, в котором вы публиковались, в материалах и методах действительно нету этого и, видимо, этот журнал не требует, но, в принципе, если бы вы бы этот же материал попытались опубликовать где-то в другом месте, очевидно совершенно, у вас бы просто не приняли его, в любом случае вы должны упомянуть как вы работали с этими новорожденными мышами.

**А.А. АСТАХОВА:** Хорошо.

**Ю.Л. ДОРОХОВ:** Как безжалостно или жалостливо вы их умерщвляли.

**А.А. АСТАХОВА:** Хорошо, спасибо большое. Следующий вопрос по поводу ЛПС, который может оказаться или не оказаться в мозге. Тут ситуация не такая простая, как кажется. Дело в том, что есть в литературе данные о том, что, за счет того, что наш организм, в принципе, обогащен микроорганизмами, ЛПС в том или ином количестве может присутствовать, в том числе и в крови. Другой вопрос, насколько он присутствует и какие эффекты имеет на уровне организма, это не настолько установлено, чтобы это можно было прямо цитировать и говорить.

**Ю.Л. ДОРОХОВ:** А барьер?

**А.А. АСТАХОВА:** Значит, что касается барьера, барьер действительно препятствует проникновению, однако считается, что барьер может нарушаться в результате разных патологий. Но на самом деле, не в этом была суть работы. Дело в том, что ЛПС является

селективным агонистом Толл-подобного рецептора 4, а этот Толл-подобный рецептор 4 является, в том числе, мишенью для многих факторов воспаления, которое может активироваться в мозге, например, эндогенного воспаления. Его могут вызывать продукты распада гиалуроновой кислоты, продукты, какие-то внутриклеточные компоненты, и ЛПС в таких, подобных работах используют не столько как имитатор грам-отрицательного бактериального патогенеза, как модельное воспаление. Что касается зазора между клеточными культурами и условиями настоящего мозга, конечно, он огромен, с другой стороны, механизмы, которые контролируют воспаление настолько сложны, что рассматривать их сразу на уровне мозга, это крайне затруднительно. К тому же некоторые процессы, например, выброс простагландина E2 оценить на уровне ткани в принципе не представляется возможным. Поэтому я с вами абсолютно согласна, что необходимо соотнесение между нашими моделями и воспалением, которое действительно происходит, ну, вот мы работали в рамках модели. Спасибо.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Еще один вопрос.

**С.В. РАЗИН (доктор биологических наук, заведующий кафедрой молекулярной биологии, Биологического факультета, МГУ им. М.В. Ломоносова):** А вы можете показать на слайд с локализацией.

**А.А. АСТАХОВА:** Да, конечно.

**С.В. РАЗИН:** Вот вы ничего не сказали, что у вас красным цветом там?

**А.А. АСТАХОВА:** Красным цветом у нас белок, который называется GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок, который является маркером астроглии.

**С.В. РАЗИН:** Следующий вопрос, а почему, когда у вас в контроле такой четкий зеленый сигнал, почему вы считаете, что это ядра, вы ведь их не красили, ни ДАПИ, ни на гистоны.

**А.А. АСТАХОВА:** В конкретно этих исследованиях, нет, но честно говоря предположить, что какая-то другая структура такой формы в центре клетки и настолько крупная и это не ядро, это довольно сложно. Вообще, я красила ядра, не конкретно в этих. Здесь дело в том, что, я объясню, здесь ограничение только, скажем, по количеству доступных антител и каналов в микроскопе, не получалось покрасить и то, и другое.

**С.В. РАЗИН:** Ну, ДАПИ-то не требует антител.

**А.А. АСТАХОВА:** ДАПИ не требует антител.

**С.В. РАЗИН:** Если у вас микроскоп флуоресцентный, то вы легко можете увидеть ДАПИ, у всех есть соответствующие лазеры.

**А.А. АСТАХОВА:** Да, хорошо, спасибо большое.

**С.В. РАЗИН:** Спасибо.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Пожалуйста.

**Л.А. БАРАТОВА** (доктор химических наук, заведующий отделом, Отдел хроматографического анализа, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова): У меня вот какой вопрос, по клеточным культурам. Поскольку это из очень важных факторов успеха вашей работы. По всей видимости, вы получали, то есть клетки кто-то вел, правильно?

**А.А. АСТАХОВА:** Да.

**Л.А. БАРАТОВА:** В связи с этим, у меня такой вопрос, а были ли какие-то особые проблемы с ними в работе, насколько это стабильно, то есть вот, поскольку вы использовали их для работы. Сами клетки, как это все вот.

**А.А. АСТАХОВА:** Поясните, пожалуйста, что значит стабильно?

**Л.А. БАРАТОВА:** Насколько у вас, так сказать, воспроизводимы результаты. Как это все получалось?

**А.А. АСТАХОВА:** Значит, культуру мы контролируем на уровне морфологического, внешнего вида. В общем-то, такой первичный контроль подразумевал анализ того, насколько они, грубо говоря, быстро выросли при каждой посадке, и насколько они, сколько их в конечном итоге получилось в количестве. Эти результаты достаточно воспроизводимы у нас. Что касается биологических ответов, честно говоря, для некоторых генов есть колебания, например, тот же интерлейкин 10 на уровне мРНК, но не на уровне белка, что примечательно, он действительно имел колебания, а вот для СОХ-2 результаты воспроизводятся очень хорошо.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Еще вопросы. Все, вопросов больше нету. Попросим Игоря Александровича, чтобы он нас ознакомил с решением отдела биокинетики. А отзывы на автореферат? В данном случае они переставлены у нас раньше. Уже идет шестой пункт. Шестым пунктом. Ну, новый порядок работы. Надо привыкать. Это деятельность ученого секретаря.

**И.А. КРАШЕНИННИКОВ:** (*Зачитывает отзывы на автореферат, заверенные отзывы прилагаются*).

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Спасибо большое, Игорь Александрович. Небольшая техническая накладка произошла из-за того, что первое наше рабочее заседание была защита докторской диссертации и, таким образом, уплыла довольно важная часть, это выступление

научного руководителя, поэтому мы сейчас вставим этот важный элемент уже после оглашения отзывов на автореферат. Пожалуйста, слово научному руководителю.

**М.Г. СЕРГЕЕВА (доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, Отдел биокинетики, НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова):** Добрый день, ну что я хочу сказать. Вообще, мне очень повезло, что у меня такие сотрудники, вот до этого, если вы помните, два года, Чистяков Дмитрий выступал, вот сейчас Алина. Что очень мне понравилось. Вот, во-первых, она очень целеустремленная и в достижении цели даже перфекционист, в какой-то степени, вот по ее первому образованию, университетскому она занималась микроскопией, но потом решила, что нужна более современная платформа, биоинформатика и молекулярная биология, приехала к нам, освоила. У нее, мы не включили, в основном сюда много работ по биоинформатике, освоила вот эти все методы молекулярные, при этом, очень много работает с молодежью. Вот там, если вы оглянетесь, вот там человек десять сидит молодых студентов, и для меня еще что важно, вот ее результаты по поводу того, что регулируются провоспалительные и противовоспалительные факторы одновременно и по схожим механизмам, они легли в основу нашего проекта по РНФ по направленной регуляции вот этих процессов резолюции и поиску, тут вы видите – пока перебираются классические ингибиторы, потом мы выйдем на более необычные, вот именно способов регуляции этих процессов разрешения воспаления. То есть, у меня самые положительные отзывы, я считаю, что она безусловно, не только заслуживает звания кандидата биологических наук, но это как раз вот тот человек, который должен в университете работать в науке и с молодежью. Спасибо.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Спасибо большое за отзыв. Теперь мы можем плавно перейти к заслушиванию официальных оппонентов. И первым оппонентом у нас выступает Горбачева Любовь Руфэлевна.

**Л.Р. ГОРБАЧЕВА (доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, доцент МГУ имени М.В. Ломоносова, биологического факультета, кафедры физиологии человека и животных, лаборатории общей физиологии и регуляторных пептидов):** Добрый день. *(Излагает содержание отзыва официального оппонента на диссертационную работу, заверенный отзыв прилагается).* Ну и, соответственно, заключение, которое можно сделать в ходе исследования работы. Конечно же, диссертационная работа «Воспалительный ответ астроцитов при их однократной и повторной стимуляциях липополисахаридом» по своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в п.9 «Положения о порядке

присуждения ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ», и её автор, Астахова Алина Анатольевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности «Молекулярная биология».

**А.А. АСТАХОВА:** Да, спасибо большое, Любовь Руфэлевна. Значит, что хочется прокомментировать. По поводу интерлейкина 10. Да, нам тоже было очень приятно выявить не только на уровне мРНК, но и на уровне белка, и вот тут мы как раз возвращаемся к вопросу, который был задан о том, насколько вообще удачно использовать модель именно клеточную. Дело в том, что на уровне ткани интерлейкин 10 возможно детектировать только через иммуноблотты, я вот не имела возможности работать с антителами против интерлейкина 10, но против интерлейкина 6 я пробовала антитела от очень хорошей компании, у которой обычно антитела работают, и вот иммуноблотты технически не получаются, вот, я уж даже и не знаю, в чем там причина, а вот на уровне выброса, на уровне иммуноферментного анализа выявлялись очень хорошо. Но тут нам просто повезло с компанией-производителем, потому что в данном случае мы полностью зависим от того, что нам предоставляет какой-то коммерческий производитель. Что касается контроля чистоты. Действительно, микроглия – это иммунореактивные клетки, не просто иммунокомпетентные, а очень иммунозаряженные клетки, и для того, чтобы избавиться от них мы применяли протокол оттряхивания культуры по мере роста астроглиальных культур. Дело в том, что микроглия находится обычно над астроцитами и плохо держится, поэтому она легко оттряхивается. Вот, для того, чтобы контролировать чистоту мы окрашивали культуры GFAP в сочетании с изолектином Б4, это маркер, который используют для микроглии. Я, когда начинала работу по протоколу, который был разработан до меня и использован уже несколькими поколениями наших сотрудников, я проводила несколько таких окрашиваний, и, в принципе, периодически, мы, если меняем что-то такое серьезное в протоколе мы стараемся это протестировать. Но, конечно, не для каждой культуры. Но, совершенно верно было подмечено, что это может быть проблемой, поэтому на это следует обращать внимание. Что касается замечаний про морфологию, большое спасибо, мы учтем.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Удовлетворены?

**Л.Р. ГОРБАЧЕВА:** Да.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Спасибо большое. Переходим к заслушиванию второго оппонента. Пожалуйста, слово имеет Гуляева Людмила Федоровна. Ее не будет, таким образом, слово имеет Игорь Александрович. Хорошо, давайте тогда слушаем третьего оппонента, это – Фуралев Владимир Александрович, пожалуйста.

**В.А. ФУРАЛЕВ** (кандидат биологических наук, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), лаборатория инженерной энзимологии, старший научный сотрудник): Ну, уважаемые коллеги, после заслушивания предыдущего оппонента к хвалебной части, в общем-то добавить нечего. Я целиком и полностью согласен, что это очень хорошая работа, что работа актуальная, проблема важная, все разделы действительно соответствуют тому, что должно быть в кандидатской диссертации, литобзор по теме и очень добротен выполнен, действительно, интереснейшие исследования про ТНФ альфа и интерлейкин 10, про которые здесь говорили, про циклооксигеназу, особенно мне интересно, поскольку я занимаюсь сигнальными каскадами, это исследовано влияние различных ингибиторов регуляторных протеин-киназ, исследована роль фактора NF- $\kappa$ B. Все это замечательно, показано отличие повторной стимуляции от первичной, тут мне просто нечего добавить, тут я полностью согласен с предыдущим оппонентом. Но я хотел бы напомнить, что слово оппонент идет из древнего Рима, и так назывался человек, который бежал за колесницей триумфатора и всячески ругал его, чтобы триумфатор не загордился, позвольте мне вернуться к этой функции оппонента и немножко поругать работу, точнее, высказать небольшие критические замечания. *(Излагает критические замечания из отзыва официального оппонента на диссертационную работу, заверенный отзыв прилагается)*. Ну, и хотелось бы все-таки заметить в конце, что сказанные мной замечания ни в коей мере не снижают общей ценности работы и, с моей точки зрения, автор вполне заслуживает присуждения искомой степени. Спасибо за внимание.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Да, пожалуйста, вопросов очень много. Придется попотеть вам.

**А.А. АСТАХОВА:** Большое спасибо, Владимир Александрович, за очень подробный разбор моей работы, давайте по порядку. Значит, что касается неизвестного вещества, значит, смена порядка цифр привела к некоторому смятению, значит имеется в виду, естественно, ингибитор p38, вещество SB203580. Дальше, что касается белка 14-3-3, есть такой белок, он так и называется 14-3-3, который активно вовлечен в регуляцию ARE-опосредованной системы стабильности мРНК, и он работает со всеми сразу, то есть он связывается и с ТТР и с Хуром, при этом, с одним он связывается и вызывает усиление деградации, а с другим он связывается и вызывает усиление в сторону стабилизации. Поэтому тут я, видимо, не совсем прояснила то, что хотела донести. Ну, связывание Хур с 14-3-3 под воздействием p38 – это механизм, усиливающий стабилизацию. Что касается брутто-формулы, то тут речь шла о дезоксихолате натрия, это ключевой компонент



лизирующего буфера РИПА, без которого он, собственно, не будет лизирующим, поскольку это детергент, который входит в состав. Что касается, значит блотта, разницы по тубулину и вот этого рода замечания. Для того, чтобы оценить влияние какой-то стимуляции на уровень экспрессии белка мы использовали не менее 4 блоттов обычно, в некоторых случаях даже и больше, при этом отношение считали к тубулину и нормировали на значение в контроле, то есть, все данные приводятся по отношению к контрольным образцам – возросло или упало по отношению к контролю. Так, что теперь касается морфологии клеток, оценивали плотность иммуномаркирования и внешний вид клеток. Что касается выбора концентрации ингибитора р38, и его возможных альтернативных механизмов воздействия. Это связано и с регуляцией Хур, объединим эти вопросы. Мы выбирали ту концентрацию, которая эффективно подавляла фосфорилирование р38, вот, оценивали по блоттам. Это та концентрация, которая имела наиболее выраженный эффект. Что касается альтернативных путей, вот, в частности, может быть задействована Raf киназа, это компонент пути Ras-Raf-Erk, насколько я помню, я на самом деле в порядке технического эксперимента проводила анализ Erk – p44/p42 и в рамках моих временных точек, я не видела изменений, но я согласна, то этот момент требует более серьезного анализа и дополнительных изучений на уровне литературы и на уровне практических процедур. Так, далее. Значит, плохой рисунок, плохой блотт по MKP1. Я считаю, надо вернуться к нему. Вот это оно, да. Значит, на самом деле нас тоже не удовлетворило качество этого иммуномаркирования. Тут мы, опять же, немного заложники того, что нам предлагает фирма-производитель, это антитела компании Santa-Cruz, вот. И, значит, для того, чтобы определить, насколько мы вообще получаем биологический результат, а не просто технический – неудачное антитело взяли и сделали неверные выводы, мы, во-первых, взяли положительный контроль, который рекомендован компанией-производителем. Это коммерческий лизат клеток HeLa, действительно коммерческий, у нас не было культуры, но вот нашли образец, который свидетельствует о том, что антитело по крайней мере работает и находится на том же уровне, на котором мы видим наши детектируемые полосы. Это момент номер раз. Момент номер два, само антитело мы выбрали на основании публикации, которая была сделана на астроцитах, причем на астроцитах крыс, и сопоставление морфологическое иммуноблотта вот, как ни странно, полностью соответствует. То есть, опубликованный в работе иммуноблотт, на основании которого делаются выводы о регуляции MKP1, он выглядит также в виде нескольких полос, которые нельзя назвать действительно красивым блоттом. Кроме того, для того, чтобы убедиться, что мы получаем все-таки биологически корректный результат, мы провели... Я

измеряла ПЦРом в режиме реального времени экспрессию МКР1, не возрастает под воздействием ЛПС. И наконец триптолид тоже был добавлен для того, чтобы в конце концов убедиться, что вот оно так и есть. Поэтому я тоже считаю, что этот блотт некрасивый, и что антитело должно работать более аккуратно, но...

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Почему тогда, извините, вы не выбрали в качестве основного результата ртПЦР? Тогда у вас не было бы проблем с этим блоттом.

**А.А. АСТАХОВА:** Потому что есть все-таки рассогласование между уровнями мРНК и белка, поэтому в данном случае я бы больше поверила блотту, чем мРНК. Вот такой вот выбор. И что касается циклооксигеназы 2 и ее возможной регуляции. Действительно, скорость протеолиза могла бы иметь значение, но согласно литературным данным, которые нам известны, циклооксигеназа разрушается очень медленно – порядка 8-10 часов требуется. Это выходит за рамки диапазона, в котором работали мы.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Все вопросы по существу?

**В.А. ФУРАЛЕВ:** Да.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Спасибо большое, значит, все вопросы у нас, да-да, сейчас Игорь Александрович, пожалуйста.

**И.А. КРАШЕНИННИКОВ:** *(зачитывает отзыв официального оппонента Гуляевой Л.Ф., заверенный отзыв прилагается).*

**А.А. АСТАХОВА:** Спасибо большое за вопросы и комментарии. Так, значит, что касается митотического индекса и степени иммортализованности. Основная часть работы была проведена на первичных культурах астроцитов крыс, они, естественно, не иммортализованы, мы не проводили процедуры синхронизации культур. Как правило, для первичных клеток, согласно литературным данным такой шаг не требуют, и сопоставление наших результатов, с полученными в других лабораториях, в общем-то, обусловило то, что мы тоже не проводили процедуры синхронизации культур. Что касается использования опухолевых клеток, тканей человека. Тут надо сделать некоторое пояснение. Естественно, мы пытаемся перейти к вопросам о том, что происходит у человека в рамках различных патологий, и в этом контексте мы, в нашей лаборатории пытаемся делать анализы биоинформатических данных. Большая часть этих биоинформатических данных, которые получены на мозге, это опухолевые ткани, они могут дать нам много интересных результатов, и вот мы действительно делали часть анализа с привлечением вот такого материала. Это не вошло в доклад, но есть в автореферате, и есть в диссертации. Значит, использованы они были для того, чтобы получить соотношение с какими-то реально существующими патологиями у человека. Так, что касается межвидовой разницы между

человеком и крысой, то, естественно, она должна быть существенной, частично я этот момент затрагиваю в литературном обзоре, но наших данных не хватает для того, чтобы полноценно обсудить эти материалы. Кроме того, на человеке, на человеческих астроцитах получают крайне малое количество результатов потому, что протоколы получения астроцитов для человека неприменимы в целом. Что касается разницы между опухолевыми, трансформированными и первичными. Некоторое время назад было довольно популярно использовать глиомные клетки в качестве моделей астроцитов, мы тоже попытались на ранних этапах использовать С6 – это глиома крыс. Однако мы довольно скоро увидели, что есть различия, причем, по-видимому, существенные. Например, нам не удалось выявить экспрессию белка циклооксигеназа 2 антителами моноклональными. Но это, конечно, не указывает на то, что в С6 этого белка нет, это указывает на серьезную перестройку в этом белке в глиомных клетках, поэтому мы отказались. Поэтому разница есть существенная, но мы не проводили анализ этих различий. Что касается морфологии, этот вопрос мы уже обсуждали. Спасибо.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Рассмотрение оппонентов у нас закончено, рассмотрения вопросов тоже. И мы можем приступить к началу открытой дискуссии. Могут в ней принять участие все присутствующие. Пожалуйста, кто бы хотел сказать что-нибудь по данной диссертации. Я смотрю, желающих нет. Таким образом... А нет, есть все-таки желающие.

**А.Д. ЕГОРОВ (лаборант Научно-исследовательской лаборатории генных и клеточных технологий, Кафедра биохимии и молекулярной медицины, Факультет фундаментальной медицины, МГУ имени М.В. Ломоносова):** Добрый день, у меня такой вопрос по поводу последнего Вашего ответа. А вы пытались окрасить, идентифицировать наличие циклооксигеназы 2 цитохимически или на вестерн-блотте?

**А.А. АСТАХОВА:** Вестерн-блоттом.

**А.Д. ЕГОРОВ:** Тогда можно ли говорить о каких-то перестройках в структуре, если на вестерн-блотте у вас денатурированный, денатурирующий электрофорез, или вы имеете в виду перестройки в первичной структуре белка.

**А.А. АСТАХОВА:** Спасибо. Значит, антитела, которые используют для иммуноблотта распознают первичную последовательность белка потому, что тот протокол, который классический – SDS-электрофорез, электрофорез с ДСН он подразумевает шаг обработки с меркаптоэтанолом и SDS, поэтому распознавать какие-то объемные последовательности в принципе невозможно, ну а потом антитело распознает порядка 7-10, насколько я помню, аминокислот, поэтому это первичная

последовательность, поэтому я подозреваю, что про С6 ситуация может быть объяснена тем, что что-то уже изменилось в первичной последовательности циклооксигеназы 2 в тех культурах, которые есть в доступе.

**Ю.Л. ДОРОХОВ:** В порядке дискуссии. Ну, конечно, когда берутся за такую тему, сразу же ставится вопрос о зазоре, о котором я говорил, и, конечно, в этой связи, остается некоторая неудовлетворенность. Не совсем понятно, по крайней мере, мне, а как это все применить непосредственно к мозгу, применить к болезни Альцгеймера. Вот эта неудовлетворенность остается, но, наверное, такая неудовлетворенность характерна для такого рода исследований. Здесь, в порядке, я заметил еще одну поразительную вещь у диссертанта. Она великолепно держится, за словом в карман не лезет, отвечает на все вопросы и вообще, симпатичная девушка. Более того, она закончила Би-Би, закончила Би-Би, три года она была в аспирантуре Би-Би, сидела три года с 11 по 13, ну не сидела, а работала и защищается через четыре года. Несмотря на то, что как всегда опять я говорю, остаются вот эти неудовлетворенности, ДАПИ там не использовано, были, тем не менее, я считаю, что замечательная работа и сам я буду голосовать за. Я думаю, и других тоже, Алина убедила.

**А.А. АСТАХОВА:** Спасибо большое.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Есть ли еще желающие сказать слово? Желающих нет, поэтому, спасибо. Теперь вам предоставляется заключительное слово.

**А.А. АСТАХОВА:** Да, большое спасибо. Хочется выразить благодарность большому количеству человек, без которых работа была бы, ну если не невозможна, то по меньшей мере, затруднительна. То есть, во-первых, моему научному руководителю – Сергеевой Марине Глебовне большое спасибо, естественно, оппонентам большое спасибо за большую проделанную работу, это действительно серьезный труд – прочтение чужой диссертации, поиск каких-то тонких моментов. Еще хочется поблагодарить наших коллег зарубежных – профессора Георга Райзера, его сотрудников Абидат Шнайдер, Петру Груенберг. Хочется сказать отдельное спасибо студентам, которые работают в нашей лаборатории, отдельно подчеркнуть вклад Владислава Олеговича Горбатенко и Евгении Панкевич. Дмитрию Викторовичу Чистякову, тоже моему коллеге огромное спасибо. И всем присутствующим за то, что вы уделили мне сегодня внимание.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Спасибо. Теперь по порядку мы должны перейти к выбору счетной комиссии, к одному из важнейших этапов нашей деятельности. В счетную комиссию предлагаются Дорохов, Аграновский и Равин. Прошу проголосовать. (Голосование). Спасибо. Прошу счетную комиссию приступить к работе. Пока суть, да

дело, предлагается обсудить протокол, точнее, не протокол, а это у нас называется не протокол, а заключение по диссертации. Кто прочитал, у кого есть замечания? Прошу по порядку выступать.

**Н.О. КАЛИНИНА** (доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова): У меня, как у бывшего бюрократа, тут довольно много замечаний по этому заключению. Во-первых, в шапке у нас стоит доктор наук, потом, решение совета №2, конечно, всегда надо ставить защиту номером 1. Это понятно. Теперь, аспирантура, действительно, закончена в 13 году, а сейчас 17 год. В настоящее время Алина где-нибудь работает? Это тоже надо указать. Обязательно. Тут некий порядок слов, в некоторых предложениях – это я просто отдельно отметила. Теперь, Институт им. Баха называется иначе. Пожалуйста, это тоже. В автореферате всегда приводятся еще данные о конференциях, где был доложен материал диссертации. Здесь про это нет ни слова. Это нужно тоже обязательно упомянуть. Ну, наконец, относительно замечаний в отзывах на автореферат. Если все-таки эти замечания по существу, то их надо приводить. Обычно их всегда приводят. Если не по существу, то надо писать, что замечания носят редакционный характер. А когда мы пишем «существенных замечаний нет», то это предполагает, что какие-то замечания есть по сути работы. И вот последнее, вот эта ВАКовская оценка достоверности результатов, я думаю, этот абзац надо убрать. В общем, мы долго боролись, чтобы что-то такое убиралось, давайте этот абзац уберем. Он тут совершенно ни к чему. *(Передает список замечаний техническому секретарю, идет обсуждение абзаца)*.

**Е.О. САМОЙЛОВА** (технический секретарь совета МГУ.03.01): Поскольку мы можем сегодня что-то изменить в положении и в нормативных документах, то они нас попросили нумерацию защит соблюдать в течение года сквозную. То есть, у нас была первая защита Петра Андреевича Каменского, это у нас вторая защита, второе аттестационное дело, оно теперь не будет номер один. Следующее будет номер три, потом номер четыре. Как аттестация, так и протокол. Это им кажется логичным, нам тоже показалось. За доктора наук я приношу свои извинения, поскольку я выправила везде, кроме заголовка. А все остальное, конечно, мы поправим в связи с вашими замечаниями.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Теперь требуется проголосовать с учетом представленных исправлений, давайте, проголосуем. *(Голосование)*. Все за. Теперь предоставляется слово председателю счетной комиссии.

**В.Н. РАВИН:** Уважаемые коллеги, счетная комиссия, в составе Равина, Дорохова и Аграновского провела подсчет голосов и итоги голосования. Присутствуют на заседании 13 членов совета, в том числе докторов наук по профилю диссертации 6 по молекулярной биологии, 6 по вирусологии. Роздано бюллетеней 13, осталось не розданных бюллетеней – нет. Оказалось в урне 13. Результаты: «за» – 13, «против» – нет, недействительных – нет.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Прошу утвердить протокол. (*Голосование*). Тогда все остается в силе. Ну, тогда мы можем поздравить диссертанта с успешной защитой.

(*Аплодисменты*).

**А.А. АСТАХОВА:** Спасибо.

**Ю.С. МОРОЗОВ:** Можно считать, что наше заседание успешно закончено. Спасибо всем за работу.

Зам. председателя диссертационного совета,  
доктор биологических наук, профессор



С.Ю. Морозов

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук, профессор



И.А.Крашенинников