

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.039.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15.02.2017 г., протокол № 3

О присуждении Алиевой Розе Ришатовне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние внешних физико-химических факторов на спектрально-люминесцентные свойства разряженного фотопротеина обелина» по специальности 03.01.02 – биофизика принята к защите 23 ноября 2016 года, протокол № 17, диссертационным советом Д 002.039.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель – Алиева Роза Ришатовна, 1986 года рождения, в 2009 году окончила Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет» по специальности «химия». С 01 октября 2011 года по 01 октября 2015 года обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет» по специальности 03.01.02 – биофизика. В настоящее время работает в должности инженера лаборатории фотобиологии Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»».

Диссертация выполнена на кафедре биофизики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет».

Научный руководитель – доктор физико-математических наук, **Кудряшева Надежда Степановна**, ведущий научный сотрудник лаборатории фотобиологии Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»».

Официальные оппоненты:

Исмаилов Анвар Джураевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

Векшин Николай Лазаревич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории внутриклеточной сигнализации Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биофизики клетки РАН»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск) в своём положительном заключении, подписанном доктором физико-математических наук, профессором кафедры физической и коллоидной химии, ведущим научным сотрудником лаборатории фотофизики и фотохимии молекул Соколовой Ириной Владимировной и утверждённым проректором по научной работе университета, доктором физико-математических наук, профессором Ивоным Иваном Варфоломеевичем, отмечает, что диссертация несомненно является актуальной, поскольку флуоресцентные белки широко используются в

качестве генетически кодируемых маркеров для мечения отдельных молекул, внутриклеточных структур, живых клеток и целых организмов, с целью визуализации внутриклеточных процессов. При этом, разряженные фотопротеины, в отличие от GFP-подобных белков не получили такого широкого распространения в биомедицинских исследованиях, и их потенциал в качестве флуоресцентных биомаркеров в настоящее время требует подробного изучения. В отзыве подчеркнуто, что полученные и детально проанализированные автором результаты характеризуются новизной, приоритетностью и оригинальностью. В заключение отмечено, что по своему объему, актуальности, новизне и значимости полученных результатов диссертационная работа Алиевой Р.Р. полностью удовлетворяет критериям, установленным пунктом 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Соискатель имеет 18 научных работ, все по теме диссертации, из них 6 статей, опубликованных в рецензируемых российских и зарубежных научных периодических изданиях, входящих в перечень ВАК, и тезисы 12 докладов на российских и международных конференциях.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

- 1) Alieva, R.R. Ultraviolet fluorescence of coelenteramide and coelenteramide-containing fluorescent proteins. Experimental and theoretical study / R.R. Alieva, F.N. Tomilin, A.A. Kuzubov, S.G. Ovchinnikov, N.S. Kudryasheva // *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*. – 2016. – V. 162. – P. 318-323.
- 2) Alieva, R.R. Effects of alcohols on fluorescence intensity and color of a discharged-obelin-based biomarker / R.R. Alieva, N.V. Belogurova, A.S. Petrova, N.S. Kudryasheva // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2014. – V. 406, № 12. – P. 2965-2974.

3) Alieva, R.R. Fluorescence properties of Ca²⁺-independent discharged obelin and its application prospect / R.R. Alieva, N.V. Belogurova, A.S. Petrova, N.S. Kudryasheva // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2013. – V. 405, № 10. – P. 3351-3358.

На автореферат поступило **4 положительных отзыва**: **1)** отзыв д.х.н., профессора, заслуженного деятеля науки РФ Угаровой Натальи Николаевны, главного научного сотрудника химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» без замечаний; **2)** в отзыве д.х.н., профессора **Камнева Александра Анатольевича**, ведущего научного сотрудника лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук имеются следующие **замечания**: – из данных автореферата (рис. 3) не вполне ясно, почему вторая фенольная группа целентерамида (в верхней части молекулы) не может принимать участие в формировании спектров люминесценции (не вносит заметный вклад в спектры флуоресценции; см. рис. 6, ВЗМО-1); – для спектров флуоресценции (рис. 1, 2, 5, 7) для оси в единицах оптической плотности не следовало указывать “относительные единицы” (либо, если они действительно “относительные”, – необходимо указать, относительно чего они рассчитаны); **3)** отзыв к.б.н. **Сачковой Анны Сергеевны**, доцента кафедры химической технологии редких, рассеянных и радиоактивных элементов Физико-технического института национального исследовательского Томского политехнического университета содержит вопросы относительно обусловленности выбора этанола, этиленгликоля, глицерина и диметилсульфоксида в качестве экзогенных веществ и возможности с помощью предложенных флуоресцентных меток оценить степень накопления радионуклидов и тяжелых металлов (как наиболее распространенных токсикантов) в органах, или степень отравления организма в целом? **4)** отзыв к.ф.-м.н. **Маряхиной Валерии Сергеевны**, старшего научного сотрудника Оренбургского государственного

университета включает: 1. вопрос: хотелось бы понять, чем обусловлен выбор этанола, этиленгликоля, глицерина и ДМСО? и 2. замечание-пожелание: отмечу, что для практического применения желательно было исследовать влияние на спектры флуоресценции обелина наличие других белков в растворе, например, сывороточного альбумина человека, поскольку возможен перенос энергии между ними.

В отзывах отмечено, что актуальность темы диссертации не вызывает сомнения, работа затрагивает рассмотрение как фундаментальных вопросов явления флуоресценции белков, так и возможности их практического применения; автор достаточно корректно использует известные научные физико-химические методы для обоснования полученных результатов и выводов; опубликованные статьи достаточно полно отражают содержание работы, а также положения и результаты, выносимые на защиту. Приведенные в автореферате результаты и выводы обоснованы и достоверны. В качестве достоинства работы отмечено, что помимо экспериментальных данных, представлены квантово-химические расчеты, что дополняет работу и делает ее логичной и завершенной. По своему объему, актуальности, тщательности выполнения, высокому уровню анализа полученных результатов и ценности сделанных выводов работа всецело соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 – биофизика, а ее автор Алиева Р.Р. заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.01.02 – биофизика.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области биофотоники и молекулярной спектроскопии, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования и способностью оценить научную и практическую значимость диссертации. Оппонент – д.б.н., Исмаилов А.Д. является специалистом в области фотобиосенсоров, определения токсичности среды биолюминесцентными методами на основе светящихся бактерий и люцифераз насекомых. Оппонент – д.б.н., Векшин Л.Н. работает в лаборатории внутриклеточной сигнализации и является ведущим

специалистом в области спектроскопии биополимеров и фотобиофизики макромолекул. Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» является одним из ведущих университетов в области биофизики, физической химии, молекулярной спектроскопии, фотохимии и фотофизики молекул.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана идея использования целентерамид-содержащих флуоресцентных белков в качестве простейшей биотестовой системы в продолжение ряда биотестов с уменьшением уровня сложности: организмы, органы, клетки, ферментативные реакции;

предложены оригинальные научные суждения, согласно которым вариабельность спектров флуоресценции целентерамид-содержащих флуоресцентных белков в видимой области характеризуется изменением вкладов фиолетовой и сине-зеленой компонент. Данные изменения связаны с эффективностью элементарного фотохимического процесса переноса протона в молекуле целентерамида и проявляются при повышенной температуре, процессе лиофилизации и воздействии экзогенных соединений;

доказана перспективность использования целентерамид-содержащих флуоресцентных белков в качестве принципиально нового биотеста, связывающего эффективность элементарного физико-химического процесса – переноса протона в электронно-возбужденном состоянии флуорофора целентерамида с изменением параметров простейшей биотестовой системы – цвета и интенсивности флуоресценции.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, вносящие вклад в расширение представлений о флуоресценции целентерамида и целентерамид-содержащих флуоресцентных белков в видимой и ультрафиолетовой области;

применительно к проблематике диссертации результативно **использован** комплекс существующих базовых методов исследования, таких как

флуориметрический, спектрофотометрический, биохимический и квантово-химический;

изложены теоретические и экспериментальные данные о природе электронных переходов в молекуле целентерамида в целентерамид-содержащих флуоресцентных белках в видимом и ультрафиолетовом спектральных диапазонах, а также изменениях их эффективности в результате внешних воздействий;

раскрыты причины изменения вкладов флуоресценции разряженного обелина под действием различных физико-химических факторов, которые влияют на эффективность фотохимического процесса;

изучены закономерности изменения спектров флуоресценции целентерамид-содержащих флуоресцентных белков на примере разряженного фотопротеина обелина при изменении энергии фотовозбуждения и воздействии ряда физико-химических факторов – экзогенных соединений, повышенной температуры, процесса лиофилизации.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны научные основы практического применения целентерамид-содержащих флуоресцентных белков в качестве нового типа биотестов – биотестов с цветовой дифференциацией – на токсическое действие экзогенных соединений;

определены перспективы практического использования наблюдаемых изменений спектров целентерамид-содержащих флуоресцентных белков для мониторинга результатов деструктивных физико-химических воздействий, обусловленных экзогенными соединениями и повышенной температурой;

представлены рекомендации по использованию величины интенсивности флуоресценции разряженного обелина и соотношения вкладов фиолетовой и сине-зеленой компонент флуоресценции в качестве количественных оценок степени деструкции разряженного обелина.

Оценка достоверности результатов выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных физико-химических методов исследования, стандартных методик обработки результатов; показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях; научные положения, выводы и результаты, сформулированные в диссертации, обоснованы экспериментальными и расчетными данными;

теория согласуется с опубликованными экспериментальными и теоретическими данными по теме диссертации;

идея базируется на обобщении экспериментальных и теоретических подходов в области люминесцентной спектроскопии и биофотоники;

использованы авторские данные и данные, полученные ранее по рассматриваемой тематике;

установлено совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки исходной информации с обоснованием выбора объекта и методов исследования.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в получении исходных данных и научных экспериментах, личном участии в апробации результатов исследования на конференциях и семинарах, обработке, анализе, интерпретации экспериментальных и теоретических данных, описании результатов, подготовке публикаций по теме диссертационной работы.

Диссертация Алиевой Р.Р. «Влияние внешних физико-химических факторов на спектрально-люминесцентные свойства разряженного фотопротеина обелина» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, удовлетворяющую всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенных в пунктах 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в положение о присуждении ученых степеней», в которой изучены закономерности изменения спектров фотолюминесценции разряженного

обелина под действием различных физико-химических факторов, что может явиться основой для разработки новых цветных биомаркеров.

На заседании 15 февраля 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Алиевой Розе Ришатовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 25 человек, из них 8 докторов наук по профилю специальности 03.02.01 – биофизика, участвовавших на заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – 25, против присуждения учёной степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета, д.х.н.



Трофимов А.В.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.х.н.

Мазалецкая Л.И.