

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01

НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 24 мая 2017 г. № 12

о присуждении **Ермаковой Юлии Геннадьевне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Новые оптогенетические технологии в активации и визуализации процессов в нейронных сетях» по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология принята к защите 01 марта 2017 г., протокол № 4 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10; Приказ Минобрнауки России от 15 февраля 2013 г. № 75/нк).

Соискатель Ермакова Юлия Геннадьевна 1991 года рождения.

В 2013 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. С 2013 г. по настоящее время обучается в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. С 2013 по 2014 гг. работала в должности старшего лаборанта-исследователя, а с 2014 г. по настоящее время – младший научный сотрудник лаборатории молекулярных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук в лаборатории

молекулярных технологий.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор РАН Белоусов Всеволод Вадимович, руководитель лаборатории молекулярных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1. Малышев Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук.

2. Панчин Юрий Валентинович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное учреждение Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Савицким Александром Павловичем, доктором химических наук, профессором, заведующим лабораторией физической биохимии, и утвержденном директором, членом-корреспондентом РАН Поповым Владимиром Олеговичем, указала, что полученные автором результаты обладают несомненной значимостью для науки, а также медицины и фармакологии, а сама работа по всем критериям удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям "Положением о присуждении ученых степеней", а Ермакова Юлия Геннадьевна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология.

Соискатель имеет 15 опубликованных работ по теме диссертации, из них - 7 научных статей общим объёмом 3,8 печатных листа, опубликованных в зарубежных научных изданиях, входящих в базу Web of Science, а также 1 патент

РФ.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной либо существенный вклад:

1. **Ermakova, Y. G.**, Bilan, D. S., Matlashov, M. E., Mishina, N. M., Markvicheva, K. N., Subach, O. M., Subach, F. V., Bogeski, I., Hoth, M., Enikolopov, G. & Belousov, V. V. (2014) Red fluorescent genetically encoded indicator for intracellular hydrogen peroxide, **Nature Communications**, 5, 5222.
2. Bilan, D. S., Pase, L., Joosen, L., Gorokhovatsky, A. Y., **Ermakova, Y. G.**, Gadella, T. W., Grabher, C., Schultz, C., Lukyanov, S. & Belousov, V. V. (2013) HyPer-3: a genetically encoded H₂O₂ probe with improved performance for ratiometric and fluorescence lifetime imaging, **ACS Chemical Biology**, 8, 535-42.
3. Fedotov, I. V., Safronov, N. A., **Ermakova, Y. G.**, Matlashov, M. E., Sidorov-Biryukov, D. A., Fedotov, A. B., Belousov, V. V. & Zheltikov, A. M. (2015) Fiber-optic control and thermometry of single-cell thermosensation logic, **Scientific Reports**, 5, 15737.
4. Lanin, A. A., Fedotov, I. V., **Ermakova, Y. G.**, Sidorov-Biryukov, D. A., Fedotov, A. B., Hemmer, P., Belousov, V. V. & Zheltikov, A. M. (2016) Fiber-optic electron-spin-resonance thermometry of single laser-activated neurons, *Optical Letters*, 41, 5563-5566.
5. Matlashov, M. E., Bogdanova, Y. A., Ermakova, G. V., Mishina, N. M., **Ermakova, Y. G.**, Nikitin, E. S., Balaban, P. M., Okabe, S., Lukyanov, S., Enikolopov, G., Zarausky, A. G. & Belousov, V. V. (2015) Fluorescent ratiometric pH indicator SypHer2: Applications in neuroscience and regenerative biology, **Biochimica et Biophysica Acta**, 1850, 2318-28.
6. Safronov, N. A., Fedotov, I. V., **Ermakova, Y. G.**, Matlashov, M. E., Sidorov-Biryukov, D. A., Fedotov, A. B., Belousov, V. V. & Zheltikov, A. M. (2015) Microwave-induced thermogenetic activation of single cells, **Applied Physics Letters**, 106, 163702-4.
7. Schwarzlander, M., Wagner, S., **Ermakova, Y. G.**, Belousov, V. V., Radi, R., Beckman, J. S., Buettner, G. R., Demarex, N., Duchon, M. R., Forman, H. J., Fricker, M. D., Gems, D., Halestrap, A. P., Halliwell, B., Jakob, U., Johnston, I. G., Jones, N. S., Logan, D. C., Morgan, B., Muller, F. L., Nicholls, D. G., Remington, S. J., Schumacker, P. T., Winterbourn, C. C., Sweetlove, L. J., Meyer, A. J., Dick, T. P. & Murphy, M. P. (2014) The 'mitoflash' probe cpYFP does not respond to superoxide, **Nature**, 514, E12-4.

На диссертацию поступили отзывы:

1. Отзыв официального оппонента Малышева Алексея Юрьевича, отзыв положительный, содержит следующие замечания:

- В обзоре литературы природный светоактивируемый хлорный канал GtACR, ошибочно отнесен к синтетическим производным каналродопсина2 (CHR2) с измененной ионной селективностью (стр.36). Соответственно, не

процитирована статья, описывающая открытие анионного родопсина GtACR (Govorunova et. All. 2015, Science).

- В описании экспериментов с активацией TRPA1 каналов на культивируемых нейронах с использованием пэтч-клямп (стр.101) приведены только средние значения полученных величин без стандартных ошибок (величина деполяризации и входящий ток в ответ на подпороговую стимуляцию нейронов). Здесь также не указано количество проведенных экспериментов. Кроме того, в экспериментах было бы уместно детально охарактеризовать кинетику трансмембранных токов, возникающих при активации TRPA1.

2. Отзыв официального оппонента Панчина Юрия Валентиновича, отзыв положительный, содержит следующие замечания:

- В процессе изучения диссертации были замечены незначительные опечатки и неточности. Однако это не снижает хорошего впечатления от диссертационной работы.

3. Отзыв ведущей организации, составленный Савицким Александром Павловичем. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

- автору следовало бы провести дополнительную проверку полученных результатов в эксперименте по определению константы псевдопервого порядка реакции окисления сенсоров линии HyPerRed, а для представленных данных ввести более подходящий термин «кажущаяся константа скорости реакции псевдопервого порядка реакции», т.к. выбранная экспериментальная система позволяет проводить только относительное сравнение используемых сенсоров, т.к. ограничена диффузией пероксида водорода через клеточную мембрану и внутри цитоплазмы клетки.

- необходимо протестировать сенсор HyPerRed на чувствительность к синглетному кислороду, чтобы дополнить данные о его специфичности.

- В случае презентации данных термогенетики стоит более детально указывать параметры стимуляции для каждого эксперимента, т.к. они отличаются в различных экспериментах.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается их достижениями в областях науки, соответствующих тематике

диссертации, а именно в молекулярной биологии, в области изучения внутриклеточных механизмов передачи сигнала, а также оптогенетики, что подтверждается наличием у них большого количества публикаций в высокоцитируемых российских и зарубежных журналах по теме диссертации соискателя. Их высокая квалификация позволяет объективно оценить научное и практическое значение представленной диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований был создан мощный инструмент для исследования некоторых ключевых окислительно-восстановительных событий в живых системах, таких как продукция и элиминация пероксида водорода HyPerRed, генетически-кодируемый сенсор для детекции пероксида водорода, обладающий всеми свойствами предшествующей версии данного сенсора HyPer, а также спектральными свойствами красного флуоресцентного белка mApple. Также Ермаковой Ю.Г. охарактеризован инструмент для стимуляции индивидуальных клеток на базе термочувствительных белков змей TRPA1, успешно примененный для стимуляции нейронов мышцы в культуре, а также поведения избегания у личинок *Danio rerio in vivo*.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что создание новых инструментов синтетической биологии, применимых для стимуляции и визуализации внутриклеточных процессов, открывает широкие перспективы для изучения сигнальных процессов в живых организмах и возможность создания новых моделей сигнальных каскадов. Практическая значимость работы заключается в том, что полученные технологии могут быть использованы для создания новых тест-систем для медицинских препаратов, анализа токсичности и лекарственного действия веществ, а также для создания высокотехнологичных протезов конечностей и восстановления функций мозга.

Достоверность результатов исследования подтверждается тем, что работа выполнена на высоком экспериментальном уровне, результаты воспроизводимы в различных условиях, а методы исследования, предложенные и разработанные соискателем, прошли независимую экспериментальную проверку в некоторых других лабораториях, в том числе зарубежных.

Личный вклад соискателя состоит в участии на всех этапах процесса: в планировании и проведении экспериментов, анализе полученных данных, подготовке и публикации результатов исследований в научных журналах. Основные экспериментальные данные получены лично автором, за исключением создания системы стимуляции клеток с помощью ИК, проведенной сотрудниками лаборатории нелинейной оптики физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва), а также непосредственного проведения пэтч-клямп экспериментов, выполненных сотрудниками ИВНДиНФ РАН (Москва). Подготовка основных публикаций выполнена лично или при активном участии автора.

На заседании 24 мая 2017 г. Диссертационный совет принял решение присудить Ермаковой Юлии Геннадьевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 7 докторов наук по профилю диссертации (специальность 03.01.03 – молекулярная биология), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени - 23 против присуждения учёной степени - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель
диссертационного совета



академик РАН В.Т. Иванов

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. В. А. Олейников