

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01, СОЗДАННОГО
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 20 февраля 2019 г. №3

О присуждении **Мамонтовой Анастасии Вячеславовне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация "Увеличение фотостабильности зеленых флуоресцентных белков в живой клетке путем блокирования фотоиндуцированного переноса электрона" по специальности 03.01.03 - «молекулярная биология» принята к защите 19 декабря 2018 г. (протокол № 17) диссертационным советом Д 002.019.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) (ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997, Приказ Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г.)

Соискатель Мамонтова Анастасия Вячеславовна 12.12.1990 года рождения. В 2014 году соискатель окончила ФГБОУ ВПО "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова" по специальности «Биохимия».

С 1 ноября 2014 г. Мамонтова А.В. проходила обучение в очной аспирантуре ИБХ РАН, которую закончила 1 ноября 2018 года. Диплом об окончании аспирантуры (регистрационный номер 10) выдан 6 ноября 2018 г. Федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Соискатель работает младшим научным сотрудником лаборатории биофотоники в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории биофотоники Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биофотоники Богданов Алексей Михайлович.

Официальные оппоненты:

Шеваль Евгений Валерьевич, доктор биологических наук, старший научный сотрудник Отдела электронной микроскопии НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова;

Никитин Евгений Сергеевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной нейробиологии обучения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, в своем положительном заключении, подписанном Левицким Дмитрием Ивановичем, профессором, доктором биологических наук, заведующим лабораторией структурной биохимии белка, и утвержденном директором членом-корреспондентом РАН Поповым Владимиром Олеговичем, указала, что по актуальности поставленных задач, объему использованного фактического материала, уровню выполнения исследований, достоверности полученных результатов, научной новизне и практической значимости представленная диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановлений Правительства РФ от: 21.04.2016 г. № 335; 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650), а ее автор Анастасия Вячеславовна Мамонтова

заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

Соискатель имеет 4 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации 4 работы общим объемом 4 печатных листа, опубликованные в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных Минобрнауки РФ для опубликования результатов диссертаций, и индексируемых базами данных Scopus и Web of Science, в которые автор внес основной или существенный вклад:

- 1) **Mamontova A.**, Bogdanov A., Lukyanov K. Influence of cell growth conditions and medium composition on EGFP photostability in live cells, *BioTechniques*, 2015, May, 58 (5), doi: 10.2144/000114289.
- 2) Bogdanov A., Acharya A., Titelmayer A., **Mamontova A.**, Bravaya K., Kolomeisky A., Lukyanov K., Krylov A. Turning on and off photoinduced electron transfer in fluorescent proteins by π -stacking, halide binding, and Tyr145 mutations, *J. Am. Chem. Soc.*, 2016, Apr 13;138(14):4807-17, doi: 10.1021/jacs.6b00092.3.
- 3) **Мамонтова А.**, Григорьев А., Царькова А., Лукьянов К., Богданов А. Борьба за фотостабильность: механизмы обесцвечивания флуоресцентных белков, *Биоорганическая химия*, 2017, том 43 № 6, 598-607, doi: 10.7868/S0132342317060021.
- 4) **Mamontova A.**, Solovyev I., Savitsky A., Shakhov A., Lukyanov K. & Bogdanov A. Bright GFP with subnanosecond fluorescence lifetime, *Sci Rep.*, 2018 Sep 5;8(1):13224. doi: 10.1038/s41598-018-31687-w.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

На диссертацию поступили отзывы:

1. Отзыв официального оппонента д.б.н. Шеваля Е.В. Отзыв положительный, содержит следующие замечания: приложения стоило разместить в начале работы, а не в конце; стоило показать все имеющиеся данные, а не представлять второстепенные данные с формулировкой «данные не показаны».

2. Отзыв официального оппонента д.б.н. Никитина Е.С. Отзыв положительный, содержит следующие замечания:

1) Рис. 3 (автореферат), рис. 12, 15 (диссертация) – длительность измерения флуоресценции для разных белков разная т.к. измерения проводились до достижения полувыцветания. Можно ли было получить дополнительные данные, проводя измерения всех белков с максимальной длительностью, или могли бы эти недополученные данные играть какую-нибудь роль при данной постановке задачи? Почему эксперименты на рис. 23 и 27 проводились дольше, т.е. до более низких,

чем 50%, значений выцветания?

2) Как Вы считаете, возможно ли в перспективе кардинально решить проблему выцветания флуоресцентных белков, совершенствуя их дизайн? Или же возможные улучшения могут носить только градуальный характер, а для получения флуоресцентных меток, полностью устойчивых к фотообесцвечиванию, потребуются новые технологии?

3) Представление данных в столбиковых диаграммах во многих случаях можно было бы улучшить, добавив разброс, что сейчас становится фактическим требованием во все большем числе международных журналов.

4) В диссертации присутствуют незначительные недочеты по стилистике изложения, которые, однако, не умаляют высокого качества проделанной работы. Употребление жаргонизмов (например, «двухфотонный лазер») носит отдельный единичный характер, и может рассматриваться, скорее, как описка, поскольку не повторяется по тексту.

3. Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный, замечаний нет.

На автореферат поступил отзыв Гусева Николая Борисовича, доктора биологических наук, профессора, члена-корреспондента РАН, зав. кафедрой биохимии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова». Отзыв полностью положительный.

Выбор официальных оппонентов и представителей ведущей организации обосновывается тем, что они являются учеными, компетентными в области молекулярной биологии, микроскопии и клеточной биологии, имеют достаточное количество соответствующих публикаций в широко известных отечественных и зарубежных научных журналах. Они известны своими достижениями в данных областях науки, проводят широкомасштабные научные исследования в области микроскопии и молекулярной биологии. Это позволяет им дать объективную оценку научной и практической значимости представленной диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- разработана методика по увеличению фотостабильности зеленых флуоресцентных белков путем рационального дизайна
- предложены два подхода по блокированию окислительной фотоконверсии: устранение внешних акцепторов электронов путем модификации клеточной среды и устранение внутренних акцепторов электронов путем сайт-направленного мутагенеза боковых цепей eGFP после предварительных квантово-химических расчетов
- доказана перспективность применения полученных научных результатов в науке и на практике при микроскопии живых клеток

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- исследовано участие в фотообесцвечивании различных внешних параметров, таких как компоненты, входящие в состав сред, концентрация сыворотки, плотность роста клеток;
- разработана компьютерная модель переноса электрона во флуоресцентных белках;
- детально исследованы внутримолекулярные процессы, происходящие в EGFP, и предложены два возможных механизма переноса электрона: прямое туннелирование и с участием промежуточного акцептора, а также предсказаны возможные промежуточные акцепторы в боковых цепях EGFP;
- доказано влияние ряда аминокислотных остатков в боковых цепях на такие параметры как: фотостабильность, яркость, время жизни флуоресценции;

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что

- разработаны и успешно внедрены новые подходы для увеличения фотостабильности флуоресцентных белков, что найдет свое применение в экспериментах с длительным временем визуализации;
- создан белок с укороченным временем жизни флуоресценции, являющийся перспективной меткой для FLIM.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что

- результаты исследований получены на большом фактическом материале унифицированными методами с использованием современного,

сертифицированного оборудования;

- достоверность полученных результатов подтверждена биометрической обработкой с использованием традиционных критериев достоверности;
- использованы современные методики сбора и обработки исходной информации, полученной в лабораторных исследованиях, с обоснованием выбора методов наблюдения и измерения.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в процессе всех выполненных исследований, личной апробации работы на конференциях, разработке подходов по увеличению фотостабильности флуоресцентных белков, обработке и интерпретации экспериментальных данных, полученных лично автором (кроме создания компьютерной модели и квантово-химических расчетов, которые выполнены в лаборатории проф. Анны Крыловой, Университет Южной Калифорнии, США), и подготовке публикаций.

На заседании 20.02.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Мамонтовой Анастасии Вячеславовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, человек, проголосовали: за – 22, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель
диссертационного совета



академик РАН Иванов В.Т.

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.