

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.019.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ИНСТИТУТА БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМЕНИ  
АКАДЕМИКОВ М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК (ИБХ РАН) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ  
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 17.06.2015 года № 9

О присуждении **Шемякиной Ирине Игоревне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация "Красные и дальне-красные флуоресцентные белки, оптимизированные для мечения белков слияния" по специальности 03.01.03. – молекулярная биология принята к защите 18.03.2015 года, протокол №3 диссертационным советом Д 002.019.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (адрес: Российская Федерация, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая 16/10; Приказ Минобрнауки от 15 февраля 2013 г. №75/нк).

Соискатель Шемякина Ирина Игоревна 1987 года рождения. В 2010 году соискатель окончила Российский химико-технологический университет им. Д.И.Менделеева по специальности «химическая технология синтетических биологически активных веществ». В настоящее время (и в период подготовки диссертации) работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории геномики адаптивного иммунитета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории геномики адаптивного иммунитета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института

биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

Научный руководитель - доктор биологических наук Чудаков Дмитрий Михайлович, должность - руководитель лаборатории геномики адаптивного иммунитета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Соболев Александр Сергеевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной генетики внутриклеточного транспорта Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук.

Шеваль Евгений Валерьевич, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова.

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), город Москва, в своем положительном заключении, подписанном д.б.н. Ребриковым Д.В., руководителем ЦКП «Генетический полиморфизм» ИОГен РАН указала, что диссертационная работа Шемякиной Ирины Игоревны соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842) для ученой степени кандидата наук, а ее автор, Шемякина Ирина Игоревна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 –«Молекулярная биология».

Соискатель имеет 7 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 5 работ общим объемом 3 печ. листа, из них 1 опубликована в

рецензируемом российском издании и 4 опубликованы в зарубежных научных изданиях, включенных в библиографическую базу Web of Science. Научные работы по теме диссертации, в которые автор внес основной или существенный вклад:

1. **Shemiakina I.I.**, Ermakova G.V., Cranfill P.J., Baird M.A., Evans R.A., Souslova E.A., Staroverov D.B., Gorokhovatsky A.Y., Putintseva E.V., Gorodnicheva T.V., Chepurnykh T.V., Strukova L., Lukyanov S., Zاراisky A.G., Davidson M.W., Chudakov D.M., Shcherbo D. *A monomeric red fluorescent protein with low cytotoxicity*. **Nat Commun.** 2012;3:1204.
2. Shcherbo D.\*, **Shemiakina I.I.\***, Ryabova A.V., Luker K.E., Schmidt B.T., Souslova E.A., Gorodnicheva T.V., Strukova L., Shidlovskiy K.M., Britanova O.V., Zاراisky A.G., Lukyanov K.A., Loschenov V.B., Luker G.D., Chudakov D.M. *Near-infrared fluorescent proteins*. **Nat Methods.** 2010 7(10):827-9. \***равный вклад**.
3. Shcherbo D., Souslova E.A., Goedhart J., Chepurnykh T.V., Gaintzeva A., **Shemiakina I.I.**, Gadella T.W., Lukyanov S., Chudakov D.M. *Practical and reliable FRET/FLIM pair of fluorescent proteins*. **BMC Biotechnol.** 2009. 9:24.
4. Pletneva N.V., Pletnev V.Z., **Shemiakina I.I.**, Chudakov D.M., Artemyev I., Wlodawer A., Dauter Z., Pletnev S. *Crystallographic study of red fluorescent protein eqFP578 and its far-red variant Katushka reveals opposite pH-induced isomerization of chromophore*. **Protein Sci.** 2011 20(7):1265-74.
5. Горященко А.С. , Жердева В.В. , Щербо Д.С. , **Шемякина И.И.** , Савицкий А.П. *Дальнекрасный FRET-сенсор для детекции активации каспазы-3*. **Современные проблемы науки и образования.** 2013, № 4, <http://www.science-education.ru/110-9774>.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента д.б.н. Соболева Александра Сергеевича. Отзыв положительный. Содержит следующие замечания: полученные автором белки оказались малотоксичны по тесту на эмбрионах *Xenopus laevis*. Хотелось бы, чтобы И.И. Шемякина привела основания, почему целесообразно было выбрать именно такой тест на токсичность, насколько выводы, полученные с его использованием, можно перенести на другие живые объекты.

Отзыв официального оппонента д.б.н. Шеваля Евгения Валерьевича. Отзыв положительный. Содержит следующие замечания: некоторые разделы диссертации написаны несколько скомкано. Часть работы, связанная с характеристикой возможных путей использования полученных белков (прежде

всего FusionRed) могла быть написана несколько более подробно и конкретно.

Отзыв ведущей организации. Отзыв положительный. Замечания касаются только технических погрешностей и опечаток.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их достижениями в области молекулярной биологии, наличием большого количества публикаций в высокоцитируемых журналах по теме диссертации соискателя. Их высокая квалификация позволяет объективно оценить научную и практическую ценность диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненного соискателем цикла исследований получено четыре новых белка: красный, дальне-красный, и обратимо фотоактивируемые красные флуоресцентные белки. Описаны основные параметры, важные для их практического применения: мономерность при высоких концентрациях, относительная яркость, pH- и фото-стабильность флуоресцентного сигнала, эффективность функционирования в составе химерных конструкций, уровень цитотоксичности. Экспериментально показано преимущество белка FusionRed по сравнению с другими красными мономерными флуоресцентными белками *in vivo*: FusionRed демонстрирует низкую цитотоксичность и низкую склонность к агрегации. Таким образом, впервые был получен красный мономерный флуоресцентный белок, качество работы которого в составе белков слияния не уступает зеленым мономерным белкам.

Результаты работы имеют важное прикладное значение. Полученные флуоресцентные белки могут быть полезны в качестве маркеров для мечения белков в живых клетках, а также могут служить основой для разработки новых улучшенных вариантов флуоресцентных белков и биосенсоров. Полученные обратимо фотоактивируемые мономерные красные флуоресцентные белки могут быть использованы во флуоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения.

Помимо практического значения, диссертационная работа представляет фундаментальный интерес. В ходе работы были получены данные о влиянии

различных аминокислотных остатков в составе флуоресцентного белка на эффективность сворачивания, рН-стабильность и фотоактивационные свойства.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что работа выполнена на высоком экспериментальном уровне, с применением широкого спектра современных методов исследований - от молекулярно-биологических методов до методов спектроскопии и флуоресцентной микроскопии. Важно, что в ряде независимых экспериментов автором показана эффективность полученных белков в прямом сравнении с аналогами. Результаты диссертационной работы обладают несомненной новизной и полностью отражены в выводах.

Личный вклад соискателя включает участие в выборе направлений исследований и анализе данных. Весь экспериментальный материал получен лично автором, за исключением проверки белков на цитотоксичность в лабораторных животных - эмбрионах *Xenopus laevis* (лаборатория молекулярных основ эмбриогенеза ИБХ РАН д.б.н. Зарайским А.Г.), а также некоторых экспериментов по визуализации белков слияния в живых клетках (М. Давидсон, Университет штата Флорида, США). Подготовка основных публикаций выполнена лично или при непосредственном участии автора.

На заседании 17 июня 2015 г. диссертационный совет принял решение присудить Шемякиной И. И. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 6 докторов наук по профилю диссертации (специальность 03.01.03- молекулярная биология ), участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 19, против 2, недействительных бюллетеней 2.

Председатель  
диссертационного совета



академик РАН Иванов В.Т.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



д. физ.-мат. н. Олейников В.А.