

Заключение диссертационного совета МГУ.02.08

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «03» декабря 2019 года № 49

о присуждении Соловьеву Илье Дмитриевичу, гражданину РФ, ученой степени

кандидата химических наук.

Диссертация «Получение мономерной формы флуоресцентного белка SAASoti и применение его в методах субдифракционной и флуоресцентной корреляционной микроскопии» по специальности 03.01.04 – «Биохимия» принята к защите диссертационным советом 23 октября 2019 года, протокол № 46.

Соискатель Соловьев Илья Дмитриевич 1993 года рождения в 2015 году окончил химический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова". В период подготовки диссертации Соловьев Илья Дмитриевич являлся аспирантом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова" с 2015 по 2019 г, младшим научным сотрудником лаборатории физической биохимии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» с 2017 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена на кафедре химической энзимологии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова" и в лаборатории физической биохимии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор Савицкий Александр Павлович, заведующий лабораторией физической биохимии Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Кузьмин Владимир Александрович, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией процессов фотосенсибилизации, Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук;

Белоусов Всеволод Вадимович, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией редокс-регуляции, НИИ Трансляционной медицины "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Смирнов Иван Витальевич, доктор химических наук, главный научный сотрудник, заместитель директора по науке, заведующий лабораторией химии протеолитических ферментов, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 9 статей в журналах, индексируемых базами данных Web of Science, Scopus и РИНЦ, и 9 тезисов докладов конференций. Из них по теме диссертационной работы соискатель имеет 4 статьи в журналах, индексируемых базами данных Web of Science и Scopus и РИНЦ, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 03.01.04 – «Биохимия», и 6 тезисов докладов конференций.

1. **Solovyev I.D.**, Gavshina A.V., Savitsky A.P. / Novel phototransformable fluorescent protein saasoti with unique photochemical properties // International Journal of Molecular Sciences. — 2019. — Vol. 20, no. 14. — P. 3399.

2. **Solovyev I.D.**, Gavshina A.V., Katti A.S., Chizhik A.I., Vinokurov L.M., Lapshin G.D., Ivashina T.V., Khrenova M.G., Kireev I.I., Gregor I., Enderlein J., Savitsky A.P. / Monomerization of the photoconvertible fluorescent protein SAASoti by rational mutagenesis of single amino acids // Scientific reports. — 2018. — Vol. 8(1).

3. **Solovyev I.D.**, Gavshina A.V., Savitsky A.P. / Reversible photobleaching of photoconvertible saasoti-fp // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. — 2017. — Vol. 3, no. 4. — P. 040303–1–040303–5.

4. Богданов А.А., **Соловьев И.Д.**, Савицкий А.П. / Сенсоры для визуализации протеолитической активности и их применение в моделях болезни человека // Успехи биологической химии. — 2019. — Т. 59. — С. 3–38.

На диссертацию и автореферат поступило 6 дополнительных отзывов, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обусловлен их высокой компетентностью и наличием публикаций в области биохимии.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук является научно-квалификационной работой, в которой была дана исчерпывающая характеристика физико-химических свойств флуоресцентного белка SAASoti, а также предложен новый подход во флуоресцентной микроскопии, позволяющий одновременно контролировать активность фермента и параметры диффузии его субстрата на основе SAASoti в живой клетке, что вносит вклад в методологию исследований биохимии клеток. Содержание диссертации соответствует критериям, определенным в пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Замена аминокислотных остатков лизина (K145) в зарядовом интерфейсе приводит к получению стабильных тетрамеров, в то время как замена V127T в гидрофобном интерфейсе – к получению мономерной формы флуоресцентного белка SAASoti.
2. SAASoti превосходит коммерчески доступный фотоконвертируемый флуоресцентный белок Dendra2 по скорости фотоконверсии.
3. SAASoti обладает свойством обратимого фотопереключения из флуоресцентного состояния в темное для зеленой формы и частичного фотопереключения для красной формы. Аминокислотный остаток M164 подвергается окислению при длительном облучении светом $\lambda=470$ нм.

4. SAASoti применим в качестве флуоресцентной метки для метода фотоактивационной локализационной микроскопии (PALM).
5. Флуоресцентный сенсор SAASoti-23-KFP на основе FRET-пары, содержащий флуоресцентный белок V127T SAASoti в качестве донора и флуоресцентный белок KFP в качестве акцептора флуоресценции, соединенные линкером, содержащим аминокислотную последовательность –DEVVD-, позволяет детектировать активацию каспазы-3 при апоптозе в клетках млекопитающих.
6. SAASoti в составе сенсора SAASoti-23-KFP является инструментом для одновременного измерения вязкости и ферментативной активности методом флуоресцентной корреляционной спектроскопии.

На заседании 03 декабря 2019 года диссертационный совет принял решение присудить Соловьеву И.Д. ученую степень кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия», участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовал: за 19, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель диссертационного совета
д.х.н., проф., член-корр. РАН



Варфоломеев С.Д.

Ученый секретарь диссертационного совета
к.х.н.



Сакольнская И.К.

03 декабря 2019 года