

ЗАКЛЮЧЕНИЕ диссертационного совета **24.1.225.01**,
созданного на базе Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии наук»
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук
Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 14 февраля 2024 г., протокол № 5

о присуждении Фатхутдиновой Алисе Амировне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Анфолдинг и фолдинг белка по данным сверхбыстрой калориметрии» по специальности 1.4.4. Физическая химия принята к защите 29 сентября 2023 года, протокол № 19, диссертационным советом 24.1.225.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (ФИЦ КазНЦ РАН) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 420111, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Лобачевского, д. 2/31, приказ Минобрнауки РФ № 553/нк от 23.05.2018.

Соискатель, **Фатхутдинова Алиса Амировна**, 19.10.1995 года рождения, в 2018 г. окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (ФГАОУ ВО КФУ) по специальности 04.05.01. Фундаментальная и прикладная химия. В период подготовки диссертации соискатель **Фатхутдинова Алиса Амировна** являлась аспирантом очной формы обучения кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО КФУ по направлению подготовки 04.06.01. Химические науки, направленность (профиль) подготовки 02.00.04. Физическая химия, а также работала в

должности инженера научно-исследовательской лаборатории «Новые методы обработки и анализа материалов для медицины в условиях сверхбыстрого нагрева и охлаждения» Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО КФУ.

Диссертационная работа выполнена на кафедре физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО КФУ.

Научный руководитель – кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВО КФУ Мухаметзянов Тимур Анварович.

Официальные оппоненты:

Деркач Светлана Ростиславовна, профессор, доктор химических наук, профессор кафедры химии Естественно-технологического института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Мурманский арктический университет», г. Мурманск,

Селиванова Наталья Михайловна, доцент, доктор химических наук, профессор кафедры физической и коллоидной химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г. Казань

дали положительные отзывы на диссертацию.

В отзывах имеются следующие замечания:

Деркач С.Р.: 1) не конкретизированы качественные параметры промежуточной формы белка в сравнении с известной трехмерной свернутой структурой; 2) отсутствуют данные об агрегации белка в условиях экспериментов на сверхбыстром калориметре.

Селиванова Н.М.: 1) в диссертации не представлены экспериментальные данные метода динамического рассеяния света (размеры частиц, значения ζ -потенциала); 2) отсутствует список сокращений; 3) не выделена роль растворителя ДМСО в процессах фолдинга/анфолдинга лизоцима.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки **Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук** (г. Иваново) в своем положительном заключении, составленном и подписанном профессором, доктором химических наук, руководителем научной группы «Структура и динамика молекулярных и ион-молекулярных систем» Колкером Аркадием Михайловичем, и доцентом, доктором химических наук, заведующей лабораторией «Физическая химия супрамолекулярных систем на основе макроциклических соединений и полимеров» Лебедевой Натальей Шамильевной, в качестве замечания **отметила**, что в работе 1) *мало внимания уделено сопоставлению результатов по фолдингу лизоцима в глицерине с литературными данными; 2) не изложена методика учета испарения растворителя в ходе нагревов на сверхбыстром калориметре*. В отзыве также указано, что «диссертационная работа Фатхутдиновой А.А. ... является значимым научным исследованием, расширяющим сферу применения современных калориметрических методов, и может являться основой для дальнейших работ в области сверхбыстрой калориметрии белков... ..по актуальности поставленной цели и решаемых задач, научной новизне, теоретической и практической значимости, а также достоверности полученных результатов соответствует требованиям «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а её автор, Фатхутдинова Алиса Амировна, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается общностью тематики исследований с диссертационной работой, наличием компетенций в соответствующей отрасли науки, а именно в области физико-химических исследований биологических макромолекул,

обосновывался их публикационной активностью в соответствующей области и способностью дать профессиональную оценку новизны и научно-практической значимости рассматриваемого диссертационного исследования

На автореферат диссертации поступило 2 отзыва, оба положительные. Отзывы получены от:

1. д.х.н. Гринберга В.Я. (ИНЭОС РАН); в отзыве *отмечены 1) неоправданность использования терминов анфолдинг/фолдинг взамен денатурации/ренатурации, 2) отсутствие характеристик чистоты лизоцима и калориметрических данных денатурации лизоцима в условиях экспериментов;*

2. д.б.н. Максимова Е.Г. (МГУ им. М.В. Ломоносова); в отзыве *ставится вопрос о сопоставимости результатов, полученных для белка в глицерине, с аналогичными экспериментами в водных растворах, а также с результатами оптических методов исследования.*

Соискатель является соавтором 4 статей, из них 3 статьи по теме диссертации, которые опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Работы написаны соискателем в соавторстве с другими исследователями, личный вклад диссертанта заключается в выполнении основной части экспериментальной работы, анализе литературных данных, обобщении полученных результатов и подготовке текста публикаций. Диссертационная работа не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях:

1. Mukhametzyanov T.A. Calorimetric observation of lysozyme degradation at elevated temperature in water and DMSO-water mixtures / T.A. Mukhametzyanov, **A.A. Fatkhutdinova**, I.A. Sedov, L.S. Yakimova, A.E. Klimovitskii // *Thermochimica Acta.* – 2021. – Vol. 695, Art. No. 178826;

2. **Fatkhutdinova A.A.** Refolding of lysozyme in glycerol as studied by fast scanning calorimetry / A.A. Fatkhutdinova, T.A. Mukhametzyanov, C. Schick // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23, Art. No. 2773;

3. Mukhametzyanov T.A. Step-scan calorimetry of protein denaturation: modeling and experiment / T.A. Mukhametzyanov, **A.A. Fatkhutdinova**, C. Schick // Thermochimica Acta. – 2022. – Vol. 710, Art. No. 179181.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

1. **Разработан** подход к исследованию анфолдинга и фолдинга белка с помощью сверхбыстрой калориметрии, заключающийся в анализе калориметрических кривых сверхбыстрого нагрева раствора белка после изотермического выдерживания в заданных условиях;

2. **Установлено**, что причиной появления форм белка с пониженной термостабильностью, сохраняющих структуру, близкую к нативной после высокотемпературного выдерживания, является протекание дезамидирования молекул лизоцима. **Определены** кинетические параметры необратимой денатурации лизоцима при повышенных температурах в воде и смесях вода-диметилсульфоксид;

3. **Предложена** кинетическая схема фолдинга лизоцима в глицерине, определены энергия активации и энтальпия анфолдинга интермедиата, возникающего в процессе фолдинга;

4. **Показана** возможность измерения теплового эффекта анфолдинга микрообразцов белка в квазиравновесном режиме путем реализации методики ступенчатого нагрева на сверхбыстром калориметре;

5. **Проведено** математическое моделирование калориметрических кривых ступенчатого нагрева белка, позволившее **определить** условия реализации квазиравновесного режима анфолдинга;

6. **Представлены** критерии, определяющие возможность применения метода сверхбыстрой калориметрии для исследования процессов анфолдинга и фолдинга белков.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- определенные в работе кинетические и термодинамические параметры фолдинга лизоцима в глицерине способствуют расширению имеющихся представлений о роли растворителя в процессе фолдинга белков;
- в работе выполнено математическое моделирование калориметрических кривых ступенчатого нагрева белка, на основании которого установлен критерий, определяющий реализацию квазиравновесного, либо кинетически необратимого режима сканирования.

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

- предложенные в работе подходы позволяют применять сверхбыструю и термомодулированную калориметрию для определения кинетических и термодинамических параметров термической стабильности микрообразцов белка.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

достоверность результатов подтверждается использованием набора современных физико-химических методов исследования, проведенным математическим анализом полученных результатов и выполненным теоретическим моделированием. Данные, полученные разными методами, не противоречат друг другу, взаимно согласованы и соответствуют литературным данным.

Личный вклад соискателя заключается в сборе, анализе и обработке литературных данных; проведению экспериментов; обработке экспериментальных результатов; подготовке публикаций по теме диссертационного исследования и апробации работы.

В ходе заседания критических замечаний высказано не было. Соискатель аргументированно ответил на заданные вопросы.

На заседании 14 февраля 2024 года диссертационный совет принял решение присудить Фатхутдиновой Алисе Амировне ученую степень кандидата химических наук за решение актуальной задачи физической

химии, заключающейся в разработке подходов для изучения быстрых процессов анфолдинга и фолдинга глобулярных белков на основе методов сверхбыстрой и термомодулированной дифференциально-сканирующей калориметрии и установлении параметров термодинамической и кинетической устойчивости лизоцима/

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.4.4. Физическая химия, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали за – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Заместитель председателя совета

д.х.н., профессор

Игорь Анатольевич Литвинов

Ученый секретарь совета

к.х.н.

Асия Васильевна Торопчина

14.02.2024