

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.223.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА «ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ ФИЗИКИ
ИМ. А.М. ПРОХОРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»,
МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 10 июня 2024 г. № 10

О присуждении Можяевой Вере Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата физико-математических наук.

Диссертация «Методы спектроскопии комбинационного рассеяния света для идентификации белковых токсинов» по специальности 1.3.19. Лазерная физика принята к защите 08 апреля 2024 г. (протокол заседания № 4) диссертационным советом 24.1.223.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук», Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (119991 ГСП-1, Москва, ул. Вавилова, 38, приказ о выдаче разрешения на создание совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук на базе федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» от 12.12.2023 г. № 2290/нк).

Соискатель Можяева Вера Александровна, 01 сентября 1996 года рождения. В 2020 г. Можяева В.А. окончила магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» по направлению 12.04.03 Фотоника и оптоинформатика. В настоящее время соискатель обучается в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук» по направлению 03.06.01 «Физика и астрономия» по специальности 1.3.19. (01.04.21) Лазерная физика.

Соискатель работает в должности исполняющего обязанности младшего научного сотрудника отдела колебаний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук», Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, а также в должности младшего научного сотрудника в отделе молекулярной нейроиммунной сигнализации Федерального

государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена в отделе колебаний Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук», Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и отделе молекулярной нейроиммунной сигнализации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – Гарнов Сергей Владимирович, член-корреспондент РАН, доктор физ.-мат. наук, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук», Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Пеньков Никита Викторович – доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории методов оптико-спектрального анализа Института биофизики клетки РАН — обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

Ширшин Евгений Александрович – доктор физико-математических наук, доцент кафедры квантовой электроники физического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

дали положительные отзывы о диссертации со следующими замечаниями:

1. Замечания Пенькова Н.В. 1) Стр.4 «Рамановская спектроскопия (РС) ... относительно простая и удобная, и в то же время крайне информативная методика...» Здесь некорректное определение. РС – это метод, а не методика. Между этими двум терминами большая разница.
2) Стр. 6. «Интересны также вопросы о том, насколько спектр многокомпонентной смеси соответствует сумме спектров компонент; возникает ли резонансное взаимодействие излучения с определенными компонентами разнородной смеси.» Не корректно написано, так как

резонансный эффект может возникать между колебательными модами одной и той же молекулярной группы, а не между разными молекулами.

3) Стр. 9. «Если образцы предоставлялись в виде растворов, то их высушивали на воздухе.» Достаточно ли высушивать на воздухе? Контролировалось ли наличие гидратной воды и оценка степени гидратации?

4) Стр. 13 «РС способна анализировать аминокислотную последовательность и восстанавливать 3Д структуру белков». Завышенные ожидания. Не то ни другое данный метод не способен сделать в полной мере.

5) На стр. 13 указано, что спектр белка может быть примерно представлен как суперпозиция спектров аминокислот, плюс некоторая добавка слабых внутримолекулярных взаимодействий. Однако существенная часть спектра белка (иногда основная по интегральной интенсивности) определяется колебаниями пептидных связей, выражающихся в трёх амидных полосах. А эти связи являются ковалентными. Хотя далее в главе 2 имеются более корректные формулировки на этот счёт, здесь они не вполне верны.

6) Разделы 2.1.2, 3.1.2, 4.1.2 называются «Сбор данных». Всё же в спектроскопической терминологии лучше было бы использовать «измерение спектров».

7) стр. 45, 48 Для выравнивания аминокислотных последовательностей использовался биоинформатический сервис ClustalO. При этом не объясняется, что такое выравнивание, как, хотя бы в принципе, работает указанный сервис.

8) В названии раздела 2.2.5 триптофановый дуплет перепутан с тирозиновым дуплетом.

9) В разделах 2.2.5 утверждается, что лиофилизированный белок имеет ту же степень гидрофильно/гидрофобного соотношения окружения тирозина, как и белок в растворе. Откуда в лиофилизате гидрофильное окружение? Аналогичный вывод для сухого белка в разделе 5.2 (стр. 88), по-видимому, некорректен.

10) На рисунке 3.2 визуальное ядро кенийской мамбы может быть отнесён как к синему, так и голубому кластеру. Автор справедливо пишет, что это ядро отдалено от остальных ядер голубого кластера, однако оно отнесено именно к нему. По какому численному критерию был сделан такой выбор? Тот же вопрос про ядро ромбического гремучника, которое визуальное могло бы относиться к красному кластеру, но был сделан выбор в пользу жёлтого.

11) В таблице 3.2 образцы разделены на две группы: обучающие и тестовые. Как осуществлялся этот выбор, абсолютно ли случайно? Пробовали провести тот же анализ при другом выборе?

12) Стр. 77 положение пика нерегулярных структур белка искалось в двух диапазонах 1661–1667 см⁻¹ или 1678–1689 см⁻¹. Первый диапазон

более классический. Зачем второй? Если пик может быть в любом из них, почему он не может быть между ними? Как выбирался один из этих диапазонов в каждом конкретном случае?

13) На стр. 82 сказано, что «... корреляции между составом яда и полом змеи обнаружено не было.», а насколько сильно состав ядов может зависеть от возраста змеи?

14) Неоднократно оценивается соотношение трёх основных вторичных структур в белках: альфа, бета и неупорядоченных. Погрешности не указываются. Я понимаю, что достичь высокой точности этих параметров никогда не удаётся, и обычно сравнение делают на уровне средних. Но хотя бы приблизительно, какова погрешность определения вклада этих структур?

15) Не совсем понятен смысл заключительной фразы на стр. 93: «Также перспективной кажется попытка обнаружения и анализа с помощью РС змеиного яда в определенных средах, приближенным к биотканям жертвы укуса, для имитации проб, получаемых на практике от пострадавших от укуса змеи.» Если взять ткань человека, то там белков по массе будет на порядки больше, чем в змеином яде.

16) В основе работы лежит спектроскопия КР. При этом не показан исходный спектр хотя бы одного образца. На рисунках даны только предобработанные спектры. С методической точки зрения было бы интересно увидеть, как меняется типичный «сырой спектр» в результате предобработки.

17) Спектральное разрешение указано только в главе 4 на стр. 77, но оно не указано в главах 2 и 3, хотя это один из важнейших спектральных параметров.

18) Было бы лучше унифицировать единицы измерения см⁻¹. В тексте диссертации везде используется см⁻¹, а на рисунках в подписях оси рамановского сдвига – 1/см. В автореферате на рисунках используются оба обозначения.

19) Неоднократно вместо аббревиатуры МГК используется ошибочная МКГ.

20) Имеются немногочисленные опечатки.

2. Замечания Ширшина Е.В. 1) Автор указывает, что в измеренных спектрах КР присутствовал флуоресцентный, который вычитался с использованием стандартной процедуры. Тем не менее, исходных спектров и примеров вычитания фона в работе не приведено, что следовало бы сделать, поскольку при возбуждении на 532 нм флуоресцентный сигнал может значительно превышать сигнал КР, а процедура его вычитания – влиять на интерпретацию данных.
- 2) В работе отмечено, что образец в процессе измерения может нагреваться (интенсивность излучения на образце высока). Хотелось бы увидеть характерный вид спектра КР при использовавшихся параметрах

регистрации и при большей интенсивности или дозе, чтобы убедиться, что процесс измерения не влиял на состояние образца.

3) В работе ко всем спектрам применяется метод МГК, однако не показано, какую долю вариабельности дают 2-3 компоненты (использовавшиеся далее для кластеризации). Следовало бы привести зависимость невязки от числа главных компонент отдельно для модельных систем (Глава 2) и различных ядов (Главы 3 и 4).

4) В последней главе с помощью спектроскопии КР обнаружено, что два белка, минимально отличающихся между собой по первичной последовательности, обладают при этом значительным отличием конформации (что следует из сравнения их спектров) – хотелось бы, чтобы автор более детально проанализировал этот интересный факт и предложил гипотезу, объясняющую его.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский педагогический государственный университет» (МПГУ), г. Москва, в своем положительном заключении, подписанным Наумовым Андреем Витальевичем, доктором физико-математических наук, член-корреспондентом РАН, профессором РАН, заведующим кафедрой теоретической физики им. Э.В. Шпольского Института физики, технологии и информационных систем МПГУ, указала, что диссертационная работа Можаяевой В.А. «Методы спектроскопии комбинационного рассеяния света для идентификации белковых токсинов» удовлетворяет также требованиям п.п. 9, 10, 11, 13, 14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (ред. от 25.01.2024), а её автор Можаяева Вера Александровна заслуживает присуждения учёной степени кандидата физико-математических наук по научной специальности 1.3.19. Лазерная физика. Вместе с тем, ведущая организация указала, что диссертационная работа не лишена некоторых недостатков, а именно:

1. В работе недостаточно полно описан метод главных компонент. Несмотря на оправданность его применения, более подробное описание метода упростило бы понимание данного подхода другими исследователями.
2. В ходе обработки результатов вычитание из различных спектров вычитались отличающиеся базовые линии, хоть и по одному принципу. Это могло оказать влияние на итоговую дифференциацию спектров по группам, поскольку отличия в вычитаемых базовых линиях могут приводить, в частности, к изменению отношений интенсивностей пиков комбинационного рассеяния.
3. Было бы полезно проверить воспроизводимость результатов. Будут ли отличаться данные, полученные в результате дополнительного измерения

одного и того же образца, а также образца, полученного с той же особи в другой момент времени? Или с особей одного вида и одной популяции?

Соискатель имеет 8 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 3 работы, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 работы. Все они входят в международные базы Web of Science и Scopus. В 2 статьях Можяева В.А. является первым автором. Материалы диссертации достаточно полно опубликованы в работах автора. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Список наиболее значительных работ:

1. Toxins' classification through Raman spectroscopy with principal component analysis / **V.A. Mozhaeva**, D.S. Kudryavtsev, K.A. Prokhorov [et al.] // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2022. – Vol. 278. – P. 121276. – doi: 10.1016/j.saa.2022.121276.
2. Differentiation of snake venom using Raman spectroscopic analysis / **V.A. Mozhaeva**, V.G. Starkov, D.S. Kudryavtsev [et al.] // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2023. – Vol. 11. – P. 6435–6442. – doi: 10.1039/d3tb00829k.
3. Comparison of Conformations and Interactions with Nicotinic Acetylcholine Receptors for E. coli-Produced and Synthetic Three-Finger Protein SLURP-1 / V. Kost, D. Sukhov, I. Ivanov, I. Kasheverov, L. Ojomoko, I. Shelukhina, **V. Mozhaeva**, D. Kudryavtsev, A. Feofanov, A. Ignatova, Y. Utkin, V. Tsetlin // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – P. 16950. – doi: 10.3390/ijms242316950.

На автореферат поступил положительный отзыв со следующими замечаниями:

1. От Павла Николаевича Мелентьева, д.ф.-м.н., ведущего научного сотрудника Института спектроскопии Российской академии наук. Отзыв положительный, есть два замечания: 1) В автореферате нет обсуждения предельных характеристик разработанной методики, возможностей её применения в пробах с ультранизким содержанием молекул токсинов, в пределе одномолекулярной чувствительности, при возможном объединении этой методики с другими методами нанофотоники и наноплазмоники. 2) В автореферате не представлен анализ возможного использования сильной оптической связи для увеличения сечения процессов комбинационного рассеяния света, позволяющих значительно увеличить чувствительность развиваемой методики.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой степенью их компетентности в вопросах лазерной физики, достижениями, подтвержденными большим количеством высокоуровневых публикаций в соответствующей области науки и по теме диссертации, что позволяет им подтвердить достоверность полученных результатов, а также оценить актуальность и научно-практическую значимость диссертационной тематики.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработана и предложена новая методика крайне экономичного экспресс-анализа структур и состава новых белковых токсинов и цельных ядов змей.

Доказана перспективность и обоснованность применения спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) для некоторых задач токсикологии в рамках медицинской оптики.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказана эффективность спектроскопии КР для анализа сходств и различий белковых токсинов и ядов змей; применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован экспериментальный метод КР спектроскопии в комбинации с математическими методами обработки спектральных данных; изучены спектры КР ряда новых токсинов животных, а также таких сложных многокомпонентных смесей, как змеиные яды.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: разработана методика экономичного экспресс-анализа структур и состава значимых с медицинской точки зрения белковых токсинов и цельных ядов змей; определены перспективы практического использования предложенной методики на практике для анализа новых токсинов с целью выявления потенциально наиболее перспективных кандидатов на роль лекарств на основе обнаружения структурных сходств (группировке) с уже исследованными токсинами, а также для разработки эффективных противоядий; создана система практических рекомендаций по подготовке белковых образцов токсинов и записи их КР спектров; представлены методические рекомендации по обеспечению экспресс-анализа полученных спектральных данных путем их соответствующей математической обработки.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты исследования получены на современном качественном оборудовании, обеспечивается их воспроизводимость; идея базируется на обобщении передового опыта по анализу белков методами КР и анализе практики

применения методов понижения размерности и кластеризации для работы со сложными спектральными данными; использовано сравнение авторских данных и большого количества литературных данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике; установлено соответствие авторских результатов с результатами, полученными альтернативными методами и представленными в независимых источниках по данной тематике; использованы современные и эффективные методики сбора и математической обработки спектральных данных с обоснованием условий измерений.

Личный вклад соискателя состоит в том, что она лично получала спектры КР образцов, обрабатывала и интерпретировала данные; ставила основные цели и задачи, готовила материалы к публикациям совместно с соавторами. Доклады на конференциях были сделаны лично автором.

Соискатель Можаяева Вера Александровна ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы, замечания ведущей организации и оппонентов, согласилась с некоторыми замечаниями и привела собственную аргументацию.

На заседании 10 июня 2024 года диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи, имеющей значение для развития лазерной физики в области медицинской оптики и биотехнологии, а именно за разработку методики анализа белковых токсинов методом спектроскопии КР совмещенной с методами главных компонент и кластеризации присудить Можаяевой Вере Александровне ученую степень кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.19. Лазерная физика.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 10 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 15, против 0, недействительных бюллетеней 2.

Зам. председателя диссертационного совета
докт. физ.-мат. наук.



Цветков
Владимир
Борисович

Ученый секретарь диссертационного совета
канд. физ.-мат. наук

Осадчий
Александр
Валентинович

11 июня 2024 г.