ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.233.01 ПО ЗАЩИТЕ ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК, НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТ ЕХНОЛОГИИ» РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 20 февраля 2025 г. № 1
о присуждении Гавшиной Александре Васильевне, гражданство Российская Федерация, ученой степени кандидата химических наук

Диссертация «Направленное воздействие на физико-химические и флуоресцентные свойства бифотохромного флуоресцентного белка mSAASoti» по специальности 1.5.4. Биохимия принята к защите 16 декабря 2024 г. (протокол № 23) диссертационным советом 24.1.233.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» 119071, Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2. Совет Утвержден Федеральной службой по надзору в сфере образования и науки (Рособнадзор), приказ № 2249-1602 от 16.11.2007 г., с учетом изменений в составе Совета в соответствии с приказом Минобрнауки России от 13 февраля 2013 года № 74/нк; от 10 февраля 2014 года №55/нк; от 30.09.2015 №1166/нк; от 13 марта 2019 года №222/нк; от 03.06.2021 №561/нк и 22 марта 2023 г. № 501/нк.

Соискатель:

Гавшина Александра Васильевна, 1992 года рождения, в 2015 году окончила Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова с присвоением квалификации специалиста по специальности 04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия. С 2017 по 2020 гг. обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН» по направления 06.06.01 Биологические науки. С 2017 года и по настоящее время работает младшим научным сотрудником лаборатории физической биохимии Института биохимии имени А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН».

Диссертация «Направленное воздействие на физико-химические и флуоресцентные свойства бифотохромного флуоресцентного белка mSAASoti» была выполнена в лаборатории физической биохимии Института биохимии имени А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии РАН».

Научный руководитель:

Савицкий Александр Павлович, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией физической биохимии Института биохимии имени А.Н. Баха Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук (ФИЦ Биотехнологии РАН).

Официальные оппоненты:

Кузьмин Владимир Александрович, доктор химических наук (специальность 02.00.04. Биофизика), профессор, заведующий лабораторией процессов фотосенсибилизации Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

Субач Федор Васильевич, кандидат химических наук (специальность 02.00.10. Биоорганическая химия), старший научный сотрудник лаборатории молекулярного конструирования Федерального государственного бюджетного учреждения Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»).

Выбор официальных оппонентов был обусловлен тем, что

-доктор химических наук Кузьмин Владимир Александрович является признанным специалистом в области химической кинетики, фотохимии и процессов фотосенсибилизации;

-кандидат химических наук Субач Федор Васильевич является одним из ведущих отечественных специалистов в исследовании флуоресцентных белков и создании сенсоров на их основе.

Квалификация оппонентов подтверждается наличием у них большого числа публикаций в рецензируемых российских и международных журналах.

Оба официальных оппонента дали положительные отзывы на диссертацию Гавшиной А.В.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М.

Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН) в своем положительном отзыве, составленном старшим научным сотрудником, кандидатом биологических наук, руководителем группы метаболических основ патологии Биланом Дмитрием Сергеевичем и младшим научным сотрудником, кандидатом биологических наук этой же группы Костюком Александром Игоревичем, и утвержденном директором ГНЦ ИБХ РАН, академиком Габибовым Александром Габибовичем, указало, что диссертационная работа Гавшиной Александры Васильевны является самостоятельной научно-квалификационной работой, которая соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительством РФ №842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, а ее автор, Гавшина А.В., заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 – Биохимия.

Выбор ведущей организации был обусловлен тем, что ГНЦ ИБХ РАН им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова имеет в составе подразделения, занимающиеся изучением флуоресцентных белков, кинетики фотопревращений и биосенсоров. Таким образом, Сотрудники ГНЦ ИБХ РАН и, в частности, группы метаболических основ патологии являются высококвалифицированными специалистами, ведущими исследования, связанные с тематикой диссертационного исследования Гавшиной А.В.

В целом, высокая квалификация оппонентов и сотрудников ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность данной диссертационной работы.

Публикации

Основные результаты диссертационной работы изложены в 3 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, что соответствует требованиям п. 11 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ от 24 сентября 2013 года №842.

1) Gavshina A.V., Marynich N.K., Khrenova M.G., Solovyev I.D., Savitsky A.P. The role of cysteine residues in the allosteric modulation of the chromophore phototransformations of biphotochromic fluorescent protein SAASoti. // *Scientific Reports* – 2021. – Vol. 11. – 24314. https://doi.org/10.1038/s41598-021-03634-9.
2) Gavshina A.V., Solovyev I.D., Savitsky A.P. The role of the 145 residue in photochemical properties of the biphotochromic protein mSAASoti: brightness versus photoconversion. // *International Journal of Molecular Sciences* – 2022. – Vol. 23. – 16058. https://doi.org/10.3390/ijms232416058.
3) Gavshina A.V., Solovyev I.D., Khrenova M.G., Boyko K.M., Varfolomeeva L.A., Minaev M.E., Popov V.O., Savitsky A.P. The role of the correlated motion(s) of the chromophore in photoswitching of green and red forms of the photoconvertible fluorescent protein

mSAASoti. // *Scientific Reports* – 2024. – Vol. 14. – 8754. https://doi.org/10.1038/s41598-024-59364-1.

Результаты работы также были представлены на 5 российских и международных конференциях и опубликованных материалах конференций.

В перечисленных публикациях адекватно отражены результаты экспериментальной работы, проведенной в рамках выполнения диссертации.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента, доктора химических наук, профессора, заведующего лабораторией процессов фотосенсибилизации Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН Кузьмина Владимира Александровича (положительный). Отзыв содержит следующие вопросы и замечания:

1. Нет ясного описания условий облучения растворов флуоресцентных белков (стационарное или импульсное облучение). Нет обоснования, чем обусловлено время для облучения 10 мин при освещении светом λ=400 нм (146 МВт/см^2).
2. В диссертации и в автореферате нет схемы элементарных фотохимических и темновых процессов, которые происходят после фотооблучения растворов флуоресцентных белков. Каким элементарным процессам относятся определяемые константы и k_2? Расчет этих констант для наглядности следовало бы представить в виде зависимости lgI-t.
3. Следует заметить, что это не двухэкспоненциальная кинетика, а кинетика образования и гибели промежуточного продукта, полученного как результат решения дифференциального уравнения кинетической схемы последовательного превращения с участием промежуточного продукта X. Согласно уравнению 3 стр. 72 и тексту диссертации автора «Кинетика образования красной формы описывается биэкспоненциальной моделью (Уравнение 3), где первая компонента отвечает за образование красной формы, а вторая – за ее фотодеструкцию». Следовательно, автор утверждает, что имеет место следующий механизм превращений, который включает существование промежуточного продукта X с временем жизни 100 сек (k1).
   X → R_0 (k1) 100 сек
   R_0 → G_0 (k_2)
   На самом деле после фотовозбуждения и поглощении фотона 400 нм мутантными зелеными формами флуоресцентных белков SAASoti образуется фотовозбужденное синглетного состояние Go + hv → G* (время жизни флуоресценции 2нсек), из которого с константой k_1 образуется красная форма и с константой k_2 красная форма гибнет. В действительности кинетическая схема выглядит следующим образом
   G * → R_0 (k_1) 2 нсек
   R_0 → G_0 (k_2)
   Измерение кинетики образования и гибели красной формы при фотооблучения 400 нм в растворах белков было выполнено автором при детектировании флуоресценции красной формы. Однако, при фотооблучении зеленой формы красная форма образуется из фотовозбужденного синглетного состояния, которое имеет время жизни примерно 2нсек, и это соответствует константе $k=5\times10^8 s^{-1}$. В эксперименте автор использует

стационарное фотовозбуждение при 400 нм и экспериментально регистрирует накопление красной формы за время около 100 сек (что соответствует, полученной автором константе $k_1 = 1\times10^{-2}$ s^{-1}). Это обусловлено чрезвычайно большим временем жизни красной формы (500 сек), которая при стационарном фотовозбуждении успевает накопиться в концентрациях достаточных для регистрации её по спектру флуоресценции. Следовательно, в экспериментах автора диссертации $k=1\times10^{-2}$ s^{-1} –это аппаратная функция и кажущееся время накопление красной формы 100 сек – это результат ее долгого времени жизни. На самом деле время накопления красной формы в 10^{10} раз быстрее (десять миллиардов раз). Полученная автором работы константа k_1 физического смысла не имеет, эти константы можно было не измерять и исключить из Табл. 1, стр. 78, и не обсуждать в работе.

4. Автором приводится чрезвычайно высокая точность определения экспериментальных констант k_1 и k_2, что не соответствует используемой в диссертации приборной базы. Эта точность в 10 раз хуже и составляет для кинетических экспериментов такого рода в лучшем случае 10% (одна из причин - отсутствие термостатирования кюветы с образцами при измерениях). В работе не указана температура, при которой проводили эксперименты и по умолчанию следует предположить комнатную температуру в интервале 20- 24 °C. Большое время жизни красной формы свидетельствует о высокой энергии активации реакции изомеризации и сильной зависимости константы k_2 от температуры, что в свою очередь должно увеличить ошибки в измерении константы k_2.
5. Величина спектрального сдвига для всех образцов mSAASoti, не содержащих замену C175A, после облучения светом 470 нм (Таблица 10, Стр. 73) составляют 1-3 нм, что вызывает сомнение в целесообразности обсуждения этих значений с учетом довольно большой полуширины спектров поглощения 25-30 нм.
6. Обсуждение результатов флуоресцентных измерений кинетики носит качественный и вероятностный характер. Нет однозначной корреляции константы k_2 с результатами исследования строения модифицированных автором флуоресцентных белков. При этом следует понимать, что автором проведена чрезвычайно большая по трудоемкости работа по синтезу, выделению и по очистке мутантных форм фотоконвертируемых и фотопереключаемых флуоресцентных белков SAASoti, проведение большое исследование по молекулярно-динамическому моделированию с потенциалами КМ/ММ красных форм различных вариантов белков. Кроме того, автором получена кристаллическая структура мутантной формы mSAASoti для последующих структурных исследований.

Диссертационная работа Гавшиной Александры Васильевны на тему «Направленное воздействие на физико-химические и флуоресцентные свойства бифотохромного флуоресцентного белка mSAASoti», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия, полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ от 24 сентября 2013 года №842, а ее автор заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

Отзыв официального оппонента, кандидата химических наук, старшего научного сотрудника лаборатории молекулярного конструирования Федерального государственного

бюджетного учреждения Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт») Субач Федора Васильевича (положительный). Отзыв содержит следующие вопросы и замечания:

1. В литобзоре отсутствует описание методов BALM и PAINT.
2. В работе отсутствует сравнение ключевых свойств белка mSAASoti, таких как яркость, контраст и скорости фотоконверсии фотопереключения, с белками аналогичного типа, например, IrisFP.

Диссертационная работа Гавшиной Александры Васильевны на тему «Направленное воздействие на физико-химические и флуоресцентные свойства бифотохромного флуоресцентного белка mSAASoti» отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ от 24 сентября 2013 года №842. Таким образом, соискатель Гавшина Александра Васильевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв ведущей организации Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (положительный). Отзыв содержит следующие *замечания*:

1. Текст работы содержит достаточно большое количество опечаток.
2. В тексте присутствуют не совсем корректные жаргонизмы. Например, автор пишет: «новые гены флуоресцентных белков часто обладают флуоресцентными и физико-химическими свойствами» (речь про белки, а не про гены), «хромофор является «защищенным» от внешних воздействий и тушителей боковой цепью самого флуоресцентного белка» (речь про остов, а не боковую цепь) и так далее.
3. В обзоре литературы встречаются исторические неточности. Например, автор утверждает, что Шимомура и соавторы предположили резонансный перенос энергии между экворином и GFP в 1971 году, хотя они сделали это еще в исходной работе 61-ого года.
4. Несколько раз в обзоре литературы автор утверждает, что при созревании хромофора GFP сначала происходит дегидратация, а потом окисление, хотя в современных работах показано, что это не так.
5. В обзоре литературы автор утверждает, что протонированная форма GFP не флуоресцирует (за счет ESPT). Это не совсем верное упрощение, поскольку соответствующий пик может быть обнаружен при внимательном рассмотрении спектров (особенно пои более низких температурах).
6. В обзоре литературы автор утверждает, что симбиоз кораллов и водорослей является уникальным, поскольку в нем участвуют два эукариотических организма. Однако, известно множество примеров подобных симбиозов.
7. В обзоре литературы автор пишет: «Причиной потери способности флуоресцировать может служить изменение величины константы кислотности хромофора (pKa) в трансформе и сопутствующее протонирование». Однако, протонирование хромофора само по себе не обязательно снижает квантовый выход флуоресценции. Оно может приводить к изменению связей хромофора с микроокружением с сопутствующим нарушением планарности.
8. В обзоре литературы автор пишет, что у белка Padron нефлуоресциирующая форма

представлена протонированным хромофором в транс-форме. В реальности хромофор в этих условиях депротонирован.

9. При обсуждении фотоактивации, автор утверждает, что у PATagRFP не происходит декарбоксилирования остатка глутамата. Однако, современные данные показывают, что это не так. Для PAmCherry также показано фотоиндуцированное окисление (не только декарбоксилирование). Для PAmKate показано декарбоксилирование.
10. При обсуждении фотодеструкции автор пишет: «Это предположение подтверждается значительным увеличением фотостабильности при замене остатка Y145 на менее сильные акцепторы электронов в eYFP [103], где хромофор взаимодействует как минимум с двумя остатками тирозина.» Однако в этой же статье показано, что второй остаток тирозина, напротив, играет протективную роль, выступая ловушкой электрона и не давая ему перейти на внешний окислитель.
11. На часть таблиц (№1, 2, 4) не присутствуют ссылки в тексте.
12. В материалах и методах указаны лишь названия праймеров в таблице, но не сказано, какие праймеры были использованы для какой задачи.
13. Автор пишет, что при гидрофобной хроматографии снижали концентрацию NaCI в элюирующем буфере. Вероятно, речь идет про сульфат аммония.
14. В материалах и методах отсутствует раздел, посвященный статистической обработке данных. Кроме того, в тех случаях, когда автор указывает ошибки измерений, она не уточняет идет ли речь про стандартные отклонения или же стандартные ошибки среднего.
15. Автор пишет: «Таким образом, MD-структуры с большей длиной связи имеют меньший отрицательный заряд на атоме кислорода и имеют меньшее сродство к протонированию; другими словами, они должны иметь более высокие значения pKa». Однако меньшее сродство к протону приводит к снижению pKa.

Отзыв содержит следующие *Вопросы*.

1. При измерении эффективности созревания белков в культуре бактерий автор осуществляла нормировку на OD600. Почему не проводили нормировку на концентрацию белка? На рисунке 16 видно, что интенсивности полос на электрофореграммах не идентичны. Кроме того, следует отметить, что эффективность экспрессии и эффективность созревания разные параметры.
2. В рамках работы концентрацию белка измеряли по коэффициенту поглощения при 280 нм, рассчитанному по первичной структуре. Однако, фолдинг белка может существенно влиять на параметры аминокислотных остатков. кроме того. сам хромофор способен поглощать в этой области. Почему не был использован какой-либо колориметрический метод?
3. Почему при определении квантового выхода и коэффициента поглощения автор не проводила поправку на концентрацию зрелых хромофоров? Ее можно оценить методом щелочной денатурации.
4. Почему за критерий чистоты белка было принято соотношение A509/A280 3:1? Убеждались ли форезом в отсутствии примесей?
5. Для кристаллизации был использован белок с С-концевым His-тагом. Поскольку автор утверждает, что His-таг может влиять на свойства белка (по этой причине для остальных экспериментов белки выделяли другим методом), встает вопрос, было ли

осуществлено сравнение оптических свойств двух вариантов?

6. Какими соображениями руководствовались при математическом описании кинетических зависимостей? Проводили ли статистические тесты на предмет того, что экспериментальные данные соответствуют аппроксимации?
7. Автор утверждает, что версия K145P является более яркой. Однако в работе показано лишь увеличение коэффициента поглощения хромофора (квантовый выход не измеряли). Не может ли в таком случае эта версия сильнее экспрессироваться или быстрее созревать. обладая схожей или даже меньшей яркостью?
8. В теории оптимизацию флуоресцентных белков можно осуществлять крайне долго, получая все более и более удачные варианты. Может ли автор оценить, насколько текущие версии пригодны для использования в современных протоколах (например, микроскопии сверхвысокого разрешения)? Есть ли у полученных версий преимущества по сравнению с другими бифотохромными белками (IrisFP, NijiFP)?

Работа Гавшиной А.В. «Направленное воздействие на физико-химические и флуоресцентные свойства бифотохромного флуоресцентного белка mSAASoti» представляет собой целостное и завершенное исследование, выполненное на высоком методологическом уровне. Работа отвечает всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г. (в актуальной редакции), а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности «биохимия» - 1.5.4.

На автореферат поступили положительные отзывы от:

Щеславского Владислава Игоревича, к.ф.-м.н., заведующего лабораторией оптической спектроскопии и микроскопии НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России.
Замечаний по оформлению или содержанию автореферата в отзыве нет.

Ширшина Евгения Александровича, д.ф.-м.н., доцента кафедры квантовой электроники Физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.
Замечаний по оформлению или содержанию автореферата в отзыве нет.

Захаровой Марины Викторовны, к.б.н., ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной биологии, ФГБУН Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН), Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук.
Замечаний по оформлению или содержанию автореферата в отзыве нет.

Приезжева Александра Васильевича, к.ф.-м.н. (01.04.03), доцента кафедры общей физики и волновых процессов (физический факультет), ФГБОУ высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова».
Замечаний по оформлению или содержанию автореферата в отзыве нет.

С вопросами выступали:
Член-корр. РАН, проф., д.б.н. Гусев Н.Б., проф., д.б.н. Шумянцева В.В., д.х.н. Безсуднова Е.Ю., проф., д.х.н. Бовин Н.В., проф., д.б.н. Красновский А.А.

В дискуссии приняли участие:
Д.б.н. Агафонов М.О., д.х.н. Безсуднова Е.Ю., к.х.н. Бойко К.М., проф., д.х.н. Дзантиев Б.Б.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получены следующие **основные результаты:**

1. Аминокислотные остатки цистеина определяют как физико-химические свойства белка mSAASoti (C21, C117), так и флуоресцентные характеристики в реакциях фотоконверсии (C71) и фотопереключения (C105). Остаток C175, наиболее вероятно, подвергается фотоокислению при облучении светом, при этом сохраняя фотостабильность самого белка mSAASoti.
2. Замены аминокислотных остатков в микроокружении хромофора – M163 и F177 – способствуют конформационной подвижности хромофора, появлению способности фотоизомеризации красной формы, при этом скорость переключения зеленой формы увеличивается в разы. Замена остатка M163 отвечает за фотовыцветание белка mSAASoti. C21N/M163T – самый быстропереключаемый вариант mSAASoti, с максимальной эффективностью переключения обеих форм.
3. Замена K145P в белке C21N/M163A mSAASoti ограничивает способность к фотоконверсии из зеленого в красный, при этом фотопереключение в темное состояние происходит с максимальной скоростью.
4. Эффективное фотопереключение происходит, если движения остатка 66H и фенильного фрагмента хромофора коррелируют и эти фрагменты принадлежат к одному сообществу, что показано с помощью динамического сетевого анализа.
5. Ключевые аминокислотные остатки в окружении хромофора занимают те же положения, что и в случае бифотохромного белка IrisFP согласно структурному выравниванию.

Научная новизна работы:
Ранее бифотохромные белки получали путем введения замен объемных а.о. в микроокружении хромофора (V157, F173 или M159), при этом амплитуда фотопереключения из флуоресцирующего в темное состояние превосходила необратимую фотодеструкцию. Однако, в случае mSAASoti свойство обратимого

фотопереключения присутствует только для зеленой формы хромофора, в то время как красная форма подвергается лишь необратимой фотодеструкции при облучении зеленым светом, что может ограничивать его использование в методе RESOLFT, например. Для флуоресцентного белка mSAASoti эти свойства наблюдаются с сохранением соответствующих аминокислотных остатков, что делает его уникальным представителем семейства фотопереключаемых белков, а механизм фотопереключения, предложенный ранее при исследовании гомологичных флуоресцентных белков, может отличаться в случае SAASoti. В ходе данной работы впервые были получены быстропереключаемые формы mSAASoti, способные к необратимой фотоконверсии из зеленого в красный, а также к обратимому переключению из флуоресцентного в темное состояние для обеих форм. Получены и впервые охарактеризованы мутантные формы mSAASoti, содержащие замены аминокислотных остатков цистеина. Для формы C21N mSAASoti впервые получена кристаллическая структура с разрешением 3,0 Å. Методом динамического сетевого анализа на различных мутантных формах mSAASoti было установлено, что для эффективного фотопереключения необходимо, чтобы движения остатка гистидина из хромофор-образующей триады и фенильного фрагмента хромофора коррелировали и принадлежали одному сообществу.

Практическая значимость работы:
Флуоресцентная метка, способная к различным видам фототрансформации и обладающая повышенной скоростью и эффективностью фотопереключения, имеет ряд преимуществ. Во-первых, при использовании такой метки требуются меньшие дозы и время экспозиции облучающего света, а во-вторых, она одновременно может быть использована в различных вариациях супер-разрешающей микроскопии. Однако, ее применение может быть ограничено в живых клетках и организмах из-за возможного взаимодействия между меткой и компонентами системы, поэтому выявление реакционноспособных а.о. флуоресцентного белка является важной задачей как с теоретической, так и с практической точек зрения.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:
Использованные методики исследования и проведенные расчеты корректны и достоверность полученных данных не вызывает сомнений;
Выводы диссертационной работы четко сформулированы и отражают значимые результаты работы.

Личный вклад соискателя заключался:
- в получении основных результатов работы лично автором, либо при непосредственном участии, включая планирование и проведение экспериментов;
-в обработке, интерпретации и анализе экспериментальных данных;
- в подготовке основных публикаций по теме диссертации совместно с соавторами и научным руководителем автора.

Заключение

Диссертация Гавшиной А.В. является законченной научно-квалификационной работой, что подтверждается наличием логичного плана исследований, использованием большого набора современных методов, постановкой логически обоснованных задач, взаимосвязанностью сделанных выводов и полученных результатов. Выводы и положения диссертации, выносимые на защиту, нашли отражение в публикациях в ведущих журналах (3 статьи). Таким образом, из представленных материалов следует, что данная работа выполнена на высоком методическом уровне и представляет интерес не только с фундаментальной, но и с практической точки зрения.

На заседании 20 февраля 2025 года диссертационный совет принял решение присудить Гавшиной Александре Васильевне ученую степень кандидата химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 12 докторов биологических наук, 8 докторов химических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав диссертационного совета 24.1.233.01.

«За» присуждение ученой степени – 21 человек,
«Против» – нет,
Недействительных бюллетеней – нет

Заместитель председателя диссертационного совета
ФИЦ Биотехнологии РАН
Доктор химических наук, профессор Б.Б Дзантиев

Ученый секретарь
Диссертационного совета
ФИЦ Биотехнологии РАН
Кандидат биологических наук А.Ф. Орловский

«20» февраля 2025 г.