

Протокол № 73

заседания диссертационного совета Д 212.038.03 по защите
диссертации на соискание учёной степени доктора биологических наук
от 01.06.2018 г.

Состав диссертационного совета утверждён в количестве 19 человек.
Присутствовали на заседании 13 человек.

Заместитель председателя: д.м.н., профессор Алабовский Владимир Владимирович.

Присутствовали: д.м.н., проф. Алабовский Владимир Владимирович, д.б.н., профессор Артюхов Валерий Григорьевич, д.б.н., доцент Вашанов Геннадий Афанасьевич, д.б.н. проф. Грабович Маргарита Юрьевна, д.б.н., проф. Епринцев Александр Трофимович, д.б.н., проф. Ершова Антонина Николаевна, д.б.н., проф. Калаев Владислав Николаевич, д.б.н., доцент, Наквасина Марина Александровна, д.б.н., проф. Пашков Александр Николаевич, д.б.н., проф. Попова Татьяна Николаевна, д.б.н., доцент Путинцева Ольга Васильевна, д.х.н., проф. Селеменев Владимир Федорович, д.фарм.н., проф. Сливкин Алексей Иванович.

Официальные оппоненты:

- Вихлянцев Иван Милентьевич, доктор биологических наук, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», лаборатория структуры и функций мышечных белков, заведующий – присутствовал;
- Крупянский Юрий Федорович, доктор физико-математических наук, ФГБУН «Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН», отдел строения вещества, заведующий – отсутствовал;
- Каменский Петр Андреевич, доктор биологических наук, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени Ломоносова», кафедра молекулярной биологии, профессор – присутствовал.

Ведущая организация: ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН», г. Москва.

Слушали: защиту диссертационной работы соискателя, окончившего докторантуру при Воронежском государственном университете Антипова Сергея Сергеевича: «Структурно-функциональные характеристики белка Dps в условиях различного микроокружения и комплексирования с ДНК», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02. – «Биофизика». Стенограмма прилагается.

Постановили: на основании протокола №1 счётной комиссии считать, что диссертация Антипова Сергея Сергеевича отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК РФ к докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02. – «Биофизика».

Результаты голосования: «За» – 13, «Против» – нет, «Недействительных бюллетеней» – нет.

По результатам обсуждения работы принято следующее заключение:

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.038.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ «ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»,
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 01.06.2018г. № 73

О присуждении Антипову Сергею Сергеевичу, гражданину РФ, учёной степени доктора биологических наук.

Диссертация «Структурно-функциональные характеристики белка Dps в условиях различного микроокружения и комплексования с ДНК» по специальности 03.01.02. – «Биофизика» принята к защите 26.02.2018 г., протокол № 66 диссертационным советом Д 212.038.03 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», Министерство образования и науки РФ, 394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1; приказ Минобрнауки РФ № 717/нк от 09.11.2012.

Соискатель Антипов Сергей Сергеевич, 1981 года рождения, работает преподавателем кафедры биофизики и биотехнологии в ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Министерства образования и науки РФ.

В 2004 году окончил магистратуру по направлению «Биология» Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет».

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Влияние ЭМИ СВЧ на регуляторные системы *Escherichia coli*» защитил в 2007 году в диссертационном совете Д 002.038.01, созданном на базе ФГБУН «Институт биофизики клетки Российской академии наук».

В 2015 году окончил очную докторантуру при биолого-почвенном факультете ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет».

Диссертация выполнена на кафедре биофизики и биотехнологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Министерства образования и науки РФ.

Научные консультанты:

Артюхов Валерий Григорьевич доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», медико-биологический факультет, кафедра биофизики и биотехнологии, заведующий;

Озолин Ольга Николаевна доктор биологических наук, профессор, ФГБУН «Институт биофизики клетки РАН», лаборатория функциональной геномики и клеточного стресса, заведующая.

Официальные оппоненты:

– Вихлянцев Иван Милентьевич, доктор биологических наук, ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», лаборатория структуры и функций мышечных белков, заведующий.

– Крупянский Юрий Федорович, доктор физико-математических наук, ФГБУН «Институт химической физики РАН им. Н.Н. Семенова», отдел строения вещества, заведующий.

- Каменский Петр Андреевич, доктор биологических наук, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени Ломоносова», кафедра молекулярной биологии, профессор.

– дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН», г. Москва в своём положительном заключении, подписанным Евгеньевым Михаилом Борисовичем, доктором биологических наук, профессором, заведующим лабораторией молекулярных механизмов адаптации, указала, что диссертация Антипова С.С. представляет собой законченную научно-квалификационную работу, формирующей понимание роли белка Dps в бактериальной клетке и механизмов, реализующихся с его участием. Работа соответствует критериям п.9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», введённого постановлением Правительства РФ

от 24 сентября 2013 №842 (в ред. от 28.08.2017), предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02. – «Биофизика».

Соискатель имеет 31 опубликованную работу, в том числе по теме диссертации опубликована 31 работа, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 12 работ. Все работы посвящены исследованию структурно-функциональных характеристик белка Dps *Escherichia coli* и особенностям его взаимодействия с ДНК. Авторский вклад составляет 91%. Общий объём – 7 п. л.

Наиболее значительные научные работы:

1. **S. Antipov**, S. Turishchev, Y. Purtov, U. Shvyreva, A. Sinelnikov, Y. Semov, E. Preobrazhenskaya, A. Berezhnoy, N. Shusharina, N. Novolokina, V. Vakhtel, V. Artyukhov, O. Ozoline. The oligomeric form of the *Escherichia coli* Dps protein depends on the availability of iron ions // 2017 – *The Molecules*. V. 22, P.1904.

2. **Antipov S.S.**, Tutukina M.N., Preobrazhenskaya E.V., Kondrashov F.A., Patrushev M.V., Toschakov S.V., Dominova I., Shvyreva U.S., Vrublevskaya V.V., Morenkov O.S., Sukharicheva N.A., Panyukov V.V., Ozoline O.N. The Nucleoid Protein Dps Binds Genomic DNA of 1 *Escherichia coli* in a non random Manner // *Plos One* – 2017 – V. 12(8), P.e0182800.

3. Melekhov V.V., Shvyreva U.S., Timchenko A.A., Tutukina M.N., Preobrazhenskaya E.V., Burkova D.V., Artiukhov V.G., Ozoline O.N., **Antipov S.S.** Modes of *Escherichia coli* Dps Interaction with DNA as Revealed by Atomic Force Microscopy // *Plos One*. – 2015. – Vol. 10(5). – p.e0126504.

На диссертацию и автореферат поступило 10 отзывов от: 1) зав. лаб. структуры и функций мышечных белков ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН» д.б.н. Вихлянцев И.М.; 2) зав. отдела строения вещества ФГБУН «Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН», д. ф-м.н. Крупянского Ю.Ф.; 3) проф. каф. молекулярной биологии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. Ломоносова» д.б.н. Каменского П.А.; 4) зав. лаб. молекулярных механизмов адаптации ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта», д.б.н., проф. Евгеньева М.Б.; 5) в.н.с. ФГБУН «Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН», д.б.н. Гудкова С.В.; 6) зав.каф. физической и аналитической химии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», д.х.н., проф., проф. РАН Кучменко Т.А.; 7) г.н.с., рук. отдела

биологических испытаний ФГБУН «Филиал института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова», д.б.н., проф. Мурашева А.Н.; 8) зам. генерального директора ООО «Инновационный центр «Бирюч – новые технологии», д.б.н. Черенкова Д.А.; 9) в.н.с. лаборатории механизмов рецепции ФГБУН «Институт биофизики клетки РАН», д.б.н. Глушковой О.В.; 10) зав. лаб. медицинской биофизики ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», д.б.н., проф., член-корр. НАН Беларуси, Слобожаниной Е.И.

Все отзывы положительные, замечания носят рекомендательный характер.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией рецензентов по тематике диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- установлено, что неорганическое ядро белка Dps содержит атомы железа как в трехвалентном, так и в двухвалентном состояниях, причем в тетра- и октаэдрическом окружении атомами кислорода.

- Доказано, что присутствие ионов двухвалентного железа способствует процессу формирования додекамерной формы Dps, что, согласно проведенным модельным экспериментам, может быть вызвано образованием дополнительных межсубъединичных контактов с участием оксидов железа: наблюдаемая олигомеризация не опосредована изменением ионной силы раствора.

- Показано влияние ряда соединений углеводной природы (D-галактуронат и D-глюкуронат) *E.coli* на процесс олигомеризации Dps и формирование нуклеопротеидных комплексов с его участием. В связи с этим можно считать, что D-галактуронат и D-глюкуронат могут играть роль кофакторов Dps, модулирующих его ДНК-связывающую активность.

- Выявлено неодинаковое сродство Dps *E.coli* к фрагментам ДНК различного нуклеотидного состава и охарактеризованы два новых способа взаимодействия Dps с линейными и разветвленными участками ДНК.

- Результаты оценки термодинамических параметров комплексов, сформированных белком Dps с линейными и разветвленными фрагментами ДНК, доказывают его большее сродство к разветвленным структурам ДНК.

- Спроектированы элементарные, самособирающиеся Y-подобные конструкции ДНК наноразмерного диапазона (20-60 нм), обеспечивающие

управляемую иммобилизацию молекул Dps в структуре нуклеопротеидного комплекса для решения различных прикладных задач.

- Проведен полногеномный поиск сайтов связывания Dps, в результате которого выявлено их неслучайное распределение по бактериальной хромосоме на экспоненциальной фазе роста *E.coli* и предложены механизмы, лежащие в основе компактизации бактериальной ДНК в зависимости от условий микро- и макроокружения.

- Показано, что белок Dps способен взаимодействовать с областями генома *E.coli*, формирующими вторичные структуры, в том числе с REP-элементами и «промоторными островками», что подтверждает его сродство к разветвлённым структурам в ДНК.

- Сайты связывания Dps с бактериальной ДНК перекрываются с местами взаимодействия других структурных белков нуклеоида *E.coli*. Максимальное перекрывание обнаружено для белка Fis, заменяющего Dps на бактериальной хромосоме при переходе клеток к фазе активного роста. Следовательно, структурно-функциональная организация генома может контролироваться различными белками с использованием одних и тех же мест связывания.

- Обоснованно предположение участия белка Dps в регуляции экспрессии генов, которая может быть опосредована интерференцией с РНК-полимеразой или белками, ингибирующими транскрипцию.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- Доказаны положения диссертационной работы, вносящие вклад в формирование представлений о строении неорганического ядра бактериального белка Dps; о роли компонентов клетки углеводной природы (D-галактуронат и D-глюкуронат), как эффекторов, модулирующих его ДНК-связывающую активность; влиянии ионов двухвалентного железа, как компонентов микроокружения, способствующих формированию додекамерной формы Dps; о неравнозначном сродстве молекул белка к фрагментам ДНК различного нуклеотидного состава и структуры; термодинамических характеристиках исследуемых нуклеопротеидных комплексов; распределении Dps по бактериальной хромосоме и механизмах, лежащих в основе компактизации бактериальной ДНК; сродстве Dps к участкам бактериальной хромосомы, ассоциированным с REP-элементами, «промоторными островками» и участкам ДНК, обогащенным инвертированными повторами; роли Dps в регуляции экспрессии генов, которая может быть опосредована интерференцией с РНК-полимеразой или белками, ингибирующими транскрипцию.

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

- Предложен и запатентован способ оценки биотропного проявления электромагнитного излучения сверхвысокой частоты с использованием системы репортерной детекции (патент на изобретение № 2653445);

- Предложена и апробирована методика подготовки образцов Dps для регистрации XANES-спектров в сверхвысоковакуумных условиях, неразрушающих его олигомер;

- Спроектированы и получены элементарные, самособирающиеся Y-подобные конструкции наноразмерного диапазона, обеспечивающие управляемую иммобилизацию молекул Dps в структуре нуклеопротеидного комплекса (заявка на полезную модель №2016150507 «Молекулярная самособирающаяся конструкция наноразмерного диапазона на основе искусственной Y-подобной ДНК-матрицы и белка Dps»).

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- экспериментальные данные получены на сертифицированном современном оборудовании, подвергнуты статистической обработке при использовании лицензионных компьютерных программ, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях.

- гипотетическая модель взаимодействия Dps-ДНК построена на основании полученных данных и согласуется с опубликованными экспериментальными результатами по исследованию механизмов взаимодействия белка Dps с ДНК различной длины и структуры, а также кинетике данных процессов.

- концепция проектирования нуклеопротеидных комплексов базируется на анализе полученных собственных результатов с использованием общепринятых методов конструирования различных ДНК-структур.

- использованы современные методы сбора и обработки исходной информации, обоснован подбор объектов наблюдения и измерения.

Личный вклад соискателя состоит в планировании, руководстве и проведении экспериментов, обработке, анализе и интерпретации полученных данных, а также подготовке научных статей, апробации результатов исследования, которая осуществлялась лично автором, либо при его непосредственном участии.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается

наличием последовательного плана исследования, непротиворечивой методологической платформой, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

В диссертации Антипова Сергея Сергеевича соблюдены установленные Положением о порядке присуждения ученых степеней критерии, которым должна соответствовать диссертация на соискание учёной степени доктора наук.

В диссертации Антипова Сергея Сергеевича отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На заседании 01.06.2018 диссертационный совет принял решение присудить Антипову С.С. учёную степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 6 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «За» – 13, «Против» – нет, «Недействительных бюллетеней» – нет.

Заместитель председателя
диссертационного совета



Алабовский Владимир Владимирович

Учёный секретарь
диссертационного совета

Грабович Маргарита Юрьевна

01 июня 2018 г.