

Заключение диссертационного совета МГУ.02.11
по диссертации на соискание ученой степени доктора наук
Решение диссертационного совета от «16» марта 2022 г. № 47

О присуждении Чернышевой Марии Григорьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора химических наук.

Диссертация «Новый подход к определению структурных особенностей комплексов белок-лиганд на межфазных границах и в объеме раствора (на примере лизоцима)» по специальностям 02.00.14 – «Радиохимия» и 02.00.11 – «Коллоидная химия» принята к защите диссертационным советом «16» декабря 2021 г., протокол № 42.

Соискатель, Чернышева Мария Григорьевна 1983 года рождения, в 2005 году окончила химический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». С 2005 года работает на кафедре радиохимии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (в 2005-2008 гг. в должности инженера, в 2008-2010 гг. в должности старшего научного сотрудника, с 2010 г. по настоящее время – в должности доцента).

20 марта 2008 г. защитила диссертацию кандидата химических наук по теме «Определение состава и строения поверхностных слоев молекулярных систем с помощью атомарного трития и меченных тритием соединений» по специальности 02.00.14 – «Радиохимия» в диссертационном совете Д501.001.42 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». 5 сентября 2018 г. Чернышевой М.Г. присвоено звание доцента по специальности 02.00.14 – «Радиохимия».

Диссертация выполнена в лаборатории Радионуклидов и меченых соединений кафедры радиохимии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Официальные оппоненты:

Калинина Мария Александровна – доктор химических наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук;

Кудряшева Надежда Степановна – доктор физико-математических наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук;

Матвеев Владимир Николаевич – доктор химических наук, профессор, профессор

кафедры коллоидной химии химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 157 опубликованных работ, включая 8 патентов РФ, в том числе по теме диссертации 24 статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень Минобрнауки РФ, а также индексируемых в базах данных РИНЦ, Web of Science, Scopus, RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальностям 02.00.14 – «Радиохимия» и 02.00.11 – «Коллоидная химия».

1. G.A. Badun, O.A. Soboleva, **M.G. Chernysheva**. Surfactant adsorption at the water–p-xylene interface as studied by the scintillation phase method. // *Mendeleev Communications*. 2007. V. 17 N 6. P. 357-358 (Импакт-фактор 1,782. WoS, Scopus), 30%.
2. **M.G. Chernysheva**, Z.A. Tyasto, G.A. Badun. Scintillation phase method: A new approach for studying surfactant behavior at liquid/liquid interface. // *J. Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2009.V. 280, No.2 P. 303–306. (Импакт-фактор 1,371. WoS, Scopus), 30 %.
3. G.A. Badun, **M.G. Chernysheva**, Z.A. Tyasto, N.A. Kulikova, A.V. Kudryavtsev, I.V. Perminova. A new technique for tritium labeling of humic substances. // *Radiochimica Acta*. 2010. V. 98 № 3. P. 161–166. (Импакт-фактор 1,440. WoS, Scopus), 30%
4. **M.G. Chernysheva**, G.A. Badun. In vitro study of proteins surface activity by tritium probe. // *J Radioanal Nucl. Chem*. 2010. V. 286. P. 835–840. (Импакт-фактор 1,371. WoS, Scopus), 50%
5. **M.G. Chernysheva**, G.A. Badun. Ionic surfactants adsorption at aqueous/organics interfaces determined by scintillation phase method. // *Mendeleev Communications*. 2011. V. 21. P. 99-100. (Импакт-фактор 1,782. WoS, Scopus), 50%
6. **M.G. Chernysheva**, G.A. Badun. Liquid Scintillation Spectrometry of Tritium in Studying Lysozyme Behavior in Aqueous/Organic Liquid Systems. The Influence of the Organic Phase. // *Langmuir*. 2011. V. 27 № 6. P. 2188-2194. (Импакт-фактор 3,882. WoS, Scopus), 50%
7. G.A. Badun, **M.G. Chernysheva**, A.L. Ksenofontov. Increase in the specific radioactivity of tritium-labeled compounds obtained by tritium thermal activation method. // *Radiochimica Acta*. 2012. V.100. P. 401-408. (Импакт-фактор 1,440. WoS, Scopus), 35%
8. **M.G. Chernysheva**, O.A. Soboleva, G.A. Badun. Competitive adsorption and interactions between lysozyme and ionic surfactants in an aqueous/organic liquid system. // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2012. V. 409 P. 130-137. (Импакт-фактор 4.539. WoS, Scopus), 40%
9. **M.G. Chernysheva**, R.A. Ivanov, O.A. Soboleva, G.A. Badun. Do low surfactants concentrations change lysozyme colloid properties? // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2013. V. 436. P. 1121-1129. (Импакт-фактор 4.539. WoS, Scopus), 40%

10. **M.G. Chernysheva**, G.A. Badun. HS-protein associates in the aqueous/oil system: composition and colloidal properties. // J Soils Sediments. 2014. V. 14(2). P. 280-291. (Импакт-фактор 3.308. WoS, Scopus), 50%
11. **M.G. Chernysheva**, Badun G.A., Razzhivina I.A., Ksenofontov A.L. Self-organization of lysozyme-ionic surfactant complexes at the aqueous-air interface as studied by tritium bombardment. // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2017. V. 520. P. 1-8. (Импакт-фактор 4.539. WoS, Scopus) 40%
12. **M.G. Chernysheva**, G.A. Badun, A.V. Shnitko, V.I. Petrova, A.L. Ksenofontov. Lysozyme-surfactant adsorption at the aqueous-air and aqueous-organic liquid interfaces as studied by tritium probe. // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2018. V. 537. P. 351-360 (Импакт-фактор 4.539. WoS, Scopus) 40%
13. **M.G. Chernysheva**, A.V. Shnitko, O.A. Soboleva, G.A. Badun. Competitive adsorption of lysozyme and non-ionic surfactants (Brij-35 and pluronic P123) from a mixed solution at water-air and water-xylene interfaces. // Colloid and Polymer Science. 2018. V. 296 (1). P 223–232. (Импакт-фактор 1.931. WoS, Scopus) 40%
14. **M.G. Chernysheva**, G.A. Badun, N.A. Kulikova, I.V. Perminova. Behavior of Humic Substances in the Liquid-Liquid System Directly Measured Using Tritium Label. // Chemosphere. 2020. V. 238, art. # 124646 (Импакт-фактор 7.086. WoS, Scopus), 25%
15. **M.G. Chernysheva**, A.V. Shnitko, A.L. Ksenofontov, A.M. Arutyunyan, M.V. Petoukhov, G.A. Badun. Structural peculiarities of lysozyme – PLURONIC complexes at the aqueous-air and liquid-liquid interfaces and in the bulk of aqueous solution. // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. V. 158. P. 721-731. (Импакт-фактор 6,953. WoS, Scopus), 40%
16. H.S. Skrabkova, **M.G. Chernysheva**, A.M. Arutyunyan., G.A. Badun Complex formation between lysozyme and myramistin and its adsorption at the aqueous-xylene interface. // Mendeleev Communications. 2020. V. 30. P, 645-646. (Импакт-фактор 1,782. WoS, Scopus), 25%
17. **M.G. Chernysheva**, A.V. Kasperovich, H.S. Skrabkova, A.V. Snitko, A.M. Arutyunyan, G.A. Badun. Lysozyme-dalargin self-organization at the aqueous-air and liquid-liquid interfaces // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2021, V. 202. Art.# 111695 (Импакт-фактор 5,268. WoS, Scopus), 25%
18. **M.G. Chernysheva**, A.V. Shnitko, H.S. Skrabkova, G.A. Badun Peculiarities of alkylamidopropyldimethylbenzylammonium (Miramistin) in the relationship to lysozyme in comparison with quaternary ammonium surfactants: coadsorption at the interfaces, enzymatic activity and molecular docking // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2021. Art # 127503 (Импакт-фактор 4.539. WoS, Scopus), 50%
19. Г.А. Бадун, **М.Г. Чернышева**, В.Ю. Позднякова, В.М. Федосеев. Новый вариант метода сцинтиллирующей фазы. // Радиохимия. 2005. Т. 47 № 6. С. 536-540. (Перевод статьи

на английский язык: A new version of the scintillation phase procedure. // Radiochemistry 2005. V. 47. № 6. P. 584-588.) (Импакт-фактор 0,66. Scopus. РИНЦ), 25%

20. З.А. Тясто, Е.В. Михалина, **М.Г. Чернышева**, Г.А. Бадун. Неравновесные процессы при взаимодействии горячих атомов трития с охлажденными твердыми мишенями. Ослабление потока атомов трития адсорбционными слоями бромидов алкилтриметиламмония. // Радиохимия. 2007. Т. 49 № 2. С. 163-165. (Перевод статьи на английский язык: Nonequilibrium processes in reactions of hot tritium atoms with cooled solid targets. Attenuation of the flow of tritium atoms in adsorption layers of alkyltrimethylammonium bromides. // Radiochemistry 2007. V. 49. № 2. P. 182-185. (Импакт-фактор 0,66. Scopus. РИНЦ), 10%

21. **М.Г. Чернышева**, Г.А. Бадун, З.А. Тясто, В.Ю. Позднякова, В.М. Федосеев, А.Л. Ксенофонтов. Неравновесные процессы при взаимодействии горячих атомов трития с охлажденными твердыми мишенями. Влияние температуры атомизатора на образование меченых веществ. // Радиохимия. 2007. Т. 49 № 2. С. 166-169. (Перевод статьи на английский язык: Nonequilibrium processes in reactions of hot tritium atoms with cooled solid targets. Influence of the atomizer temperature on formation of labeled substances. // Radiochemistry. 2007. V. 49. № 2. P. 186-189.) (Импакт-фактор 0,66. Scopus. РИНЦ), 30%

22. Г.А. Бадун, Н.А. Куликова, **М.Г. Чернышева**, З.А. Тясто, В.И. Коробков, В.М. Федосеев, Е.А. Цветкова, А.И. Константинов, А.В. Кудрявцев, И.В. Перминова. Тритиевая метка – уникальный инструмент для изучения поведения гуминовых веществ в живых системах. // Вестн. Моск. у-та. Сер. 2. Химия. 2009. Т.50 № 5. С. 348-354. (Перевод статьи на английский язык: Tritium labeling: A unique tool for studying the behavior of humic substances in living systems // Moscow Univ. Chem. Bull. 2009, V. 64. P. 276–281), (Импакт-фактор 0,52. Scopus. РИНЦ), 30%

23. Г.А. Бадун, **М.Г. Чернышева**, З.А. Тясто, В.М. Федосеев. Жидкостная сцинтилляционная спектрометрия трития в исследовании адсорбции веществ на межфазной границе вода/неполярная жидкость. // Вестн. Моск. у-та. Сер. 2. Химия. 2009. Т.50 № 5. С. 355-362. (Перевод статьи на английский язык: Liquid scintillation spectrometry of tritium in the investigation of compound adsorption at a water/nonpolar liquid interface. // Moscow Univ. Chem. Bull. 2009. V. 64. P. 282–288) (Импакт-фактор 0,52. Scopus. РИНЦ), 40%

24. А.В. Шнитко, **М.Г. Чернышева**, С.А. Смирнов, П.А. Левашов, Г.А. Бадун. Плуроники и Бридж-35 уменьшают бактериолитическую активность лизоцима. // Вестник моск ун-та. Сер 2 Химия. 2020. Т. 61. №2. С. 114-118. (Перевод статьи на английский язык: Pluronic and Brij-35 reduce the bacteriolytic activity of lysozyme // Moscow Univ. Chem. Bull. 2020. V. 75. P. 92-95.) (Импакт-фактор 0,52. Scopus. РИНЦ), 10%

На диссертацию и автореферат поступило 10 дополнительных отзывов, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался тем, что Калинина Мария Александровна и Матвеевко Владимир Николаевич являются специалистами мирового уровня в области коллоидной химии, а Кудряшева Надежда Степановна является специалистом широкого профиля в области радиохимии, обладающим высокими компетенциями в области использования меченных тритием соединений. Публикации официальных оппонентов близки по своей направленности к теме рассматриваемой диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решены следующие задачи, имеющие важное значение для развития коллоидной химии и радиохимии: С помощью радиохимического подхода, включающего использование меченных тритием соединений для исследования адсорбции и реакций атомарного трития с адсорбционными слоями, показано, что в результате взаимодействия лизоцима с катионными, анионными и неионогенными поверхностно-активными веществами (ПАВ) на границе раздела фаз жидкость-жидкость и жидкость-воздух образуются смешанные адсорбционные слои, в которых белок не полностью замещен молекулами ПАВ. 2. Образование комплексов белок-ПАВ, в том числе и с ПАВ, одноименно заряженными с белком, подтверждено спектральными методами анализа: флуоресцентная спектроскопия, УФ-спектроскопия, спектроскопия кругового дихроизма. Структура комплексов предсказана с помощью молекулярного докинга. 3. Разработана процедура расчета параметров межмолекулярного взаимодействия компонентов смешанного адсорбционного слоя из данных метода сцинтиллирующей фазы и тензиометрии. 4. Адаптирована методика тритиевой планиграфии для определения ориентации белка в поверхностном слое из данных радиоактивности аминокислот после тотального гидролиза белка. Для этого были определены количество и радиоактивность реперных аминокислотных остатков после обработки адсорбционных слоев атомарным тритием. В структуре лизоцима реперными аминокислотными остатками являются пролин (2 остатка) и фенилаланин (3 остатка). На основании их доступности к взаимодействию с атомарным тритием был сделан вывод о расположении белка в адсорбционном слое на границе с воздухом. Разработанный подход использован для описания в том числе смешанных адсорбционных слоев с анионными, катионными и неионогенными ПАВ. 5. Обнаружено увеличение коэффициента распределения гуминовых веществ и адсорбции на межфазной границе с увеличением ионной силы раствора при нейтральном значении pH. Определены составы смешанного адсорбционного слоя белок-гуминовые вещества и нерастворимого комплекса с лизоцимом. 6. Доказано инкапсулирующее действие гуминовых веществ на ферменты. Показано, что взаимодействие фульвокислот с лизоцимом не приводит к значительным изменениям в структуре белка в

отличие от взаимодействия этих кислот с альбумином, который, вероятно, теряет свою вторичную структуру в составе комплекса.

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

1. Методика определения состава адсорбционных слоев белок-лиганд на межфазных границах раствор-воздух и жидкость-жидкость.
2. Физико-химические свойства комплексов, образованных лизоцимом и катионными поверхностно-активными веществами на межфазной границе раствор-органическая жидкость и в объеме водного раствора.
3. Разработанная методика, основанная на данных, полученных с помощью метода сцинтиллирующей фазы и тензиометрии, позволяет рассчитывать параметры межмолекулярного взаимодействия белок-лиганд.
4. Формирование комплексов гуминовых и фульвокислот с глобулярными белками, обеспечивающих сохранение структуры белка, осуществляется посредством электростатического и гидрофобного взаимодействия.

На заседании «16» марта 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Чернышевой Марии Григорьевне ученую степень доктора химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 6 докторов наук по специальности 02.00.14 – «Радиохимия» и 5 докторов наук по специальности 02.00.11 – «Коллоидная химия», участвовавших в заседании, из 26 человека, входящих в состав совета (дополнительно введены на разовую защиту человек 5 человек), проголосовали: за - 21, против - 0, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель диссертационного совета

д.х.н., доцент, чл.-корр. РАН

_____ /Калмыков С.Н./

Ученый секретарь

диссертационного совета

к.х.н.

_____ /Северин А.В./

«16» марта 2022 г.