

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.136.01 (Д002.100.02),
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ ФИЗИКИ ТВЕРДОГО ТЕЛА ИМЕНИ Ю.А.
ОСИПЬЯНА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 21.05.2024 № 8

О присуждении Конареву Петру Валерьевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени доктора физико-математических наук.

Диссертация «Развитие и применение методов анализа данных малоуглового рентгеновского рассеяния многокомпонентными биологическими системами» по специальности 1.3.8 — «Физика конденсированного состояния» принята к защите 15.01.2024 г. (протокол заседания № 1) диссертационным советом 24.1.136.01 (Д 002.100.02), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физики твердого тела имени Ю.А. Осипьяна Российской академии наук (ИФТТ РАН), 142432, г. Черноголовка, Московская область, ул. Академика Осипьяна, д. 2, приказ Минобрнауки от 17.10.2019 г. № 965/нк.

Соискатель Конарев Петр Валерьевич, 11 октября 1975 года рождения, в 1998 году окончил «Московский инженерно-физический институт» (технический университет), диссертацию на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук «Исследования структуры сверхпроводников $Y_{1-x}Yb_xNi_2B_2C$, ряда полидисперсных систем, полимеров и белков методами EXAFS-спектроскопии и малоуглового рассеяния» защитил 13 июня 2001 года в диссертационном совете Д.212.130.06, созданном на базе «Московского инженерно-физического института» (технического университета). Работает в должности старшего научного сотрудника лаборатории рефлектометрии и малоуглового рассеяния Курчатовского комплекса «Кристаллография и фотоника», НИЦ «Курчатовский институт».

Диссертация выполнена в лаборатории рефлектометрии и малоуглового рассеяния Института кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография

и фотоника» РАН.

Научный консультант:

Волков Владимир Владимирович, доктор химических наук, главный научный сотрудник лаборатории рефлектометрии и малоуглового рассеяния Института кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН. Научный консультант является специалистом в области методов рентгеновского и нейтронного малоуглового рассеяния.

Официальные оппоненты:

Озерин Александр Никифорович - доктор химических наук, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, заведующий отделом полимерных конструкционных материалов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова Российской академии наук (ИСПМ РАН).

Ефремов Роман Гербертович - доктор физико-математических наук, профессор, заместитель директора по науке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН).

Авдеев Михаил Васильевич - доктор физико-математических наук, начальник сектора нейтронной оптики Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка Объединенного института ядерных исследований (ЛНФ ОИЯИ).

На диссертацию поступили только положительные отзывы. Официальные оппоненты высказали ряд замечаний и пожеланий, в основном касающихся технических моментов оформления текста и рисунков, а также уточняющих вопросов по возможностям разработанных алгоритмов и методов анализа. При этом оппоненты подчеркивают, что замечания не носят принципиального характера и не снижают общей высокой оценки работы. Все оппоненты заключают, что диссертация Конарева Петра Валерьевича полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора физико-математических наук, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.3.8. — «физика конденсированного состояния».

Ведущая организация — Федеральное государственное автономное

образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ), в своём положительном заключении, подписанном Менушенковым Алексеем Павловичем - доктором физ.-мат. наук, профессором кафедры физики твердого тела и наносистем № 70 НИЯУ «МИФИ», Рудневым Игорем Анатольевичем - доктором физ.-мат. наук, доцентом, заведующим кафедрой физики твердого тела и наносистем № 70 НИЯУ «МИФИ», и Кузнецовым Андреем Петровичем - доктором физ.-мат. наук, доцентом, директором Института лазерных и плазменных технологий НИЯУ «МИФИ», **указала**, что «Диссертационная работа обладает несомненной научной новизной», и «является законченным исследованием, включающим подробное рассмотрение предложенных методических подходов», «Обоснованность и достоверность результатов и выводов, представленных в диссертации, обеспечена как проведением подробного анализа модельных решений с использованием примеров различной сложности, так и взаимной согласованностью данных, полученных разными методами, их хорошей воспроизводимостью и высокой точностью», «Разработанные способы решения обратных задач и определения морфологии частиц в неупорядоченных системах различной природы по данным малоуглового рассеяния существенно расширяют спектр физико-математических методов исследований», «Развитые в работе алгоритмы для оценки распределений частиц по размерам рекомендуется использовать в НИЯУ МИФИ, НИЦ «Курчатовский институт», Институте синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН, Институте общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Институте катализа СО РАН и других научных центрах для исследования многокомпонентных некристаллических систем методами малоуглового рентгеновского и нейтронного рассеяния и разработки новых нанокompозитных материалов с заданными функциональными свойствами», «Принимая во внимание отмеченную актуальность проведенных в работе исследований, новизну, научную и практическую значимость полученных результатов, диссертационная работа «Развитие и применение методов анализа данных малоуглового рентгеновского рассеяния многокомпонентными биологическими системами» удовлетворяет всем требованиям Постановления Правительства Российской Федерации о присуждении ученых степеней от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор – Конарев Петр

Валерьевич, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.3.8 — физика конденсированного состояния.»

Соискатель имеет более 180 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 117 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 117 работ. Большая часть работ опубликована в высокорейтинговых научных журналах, среди них: Nature Communications, Nature Methods, IUCr Journal, Protein Science, Journal of Applied Crystallography, Journal of Molecular Biology, Structure, и др. Выборочный список наиболее значимых работ:

1. Konarev P. V., Volkov V. V., Sokolova A. V., Koch M. H. J., Svergun D. I. PRIMUS - a Windows-PC based system for small-angle scattering data analysis // J. Appl. Cryst. – 2003. – V. 36. – P. 1277-1282.

2. Konarev P. V., Petoukhov M. V., Volkov V. V., Svergun D. I. ATSAS 2.1, a program package for small-angle scattering data analysis // J. Appl. Cryst.– 2006. – V. 39. – P. 277-286.

3. Zhang X., Konarev P. V., Petoukhov M. V., Svergun D. I., Xing L., Cheng R. H., Haase I., Fischer M., Bacher A., Ladenstein R., Meining W. Multiple assembly states of lumazine synthase: a model relating catalytic function and molecular assembly // J Mol Biol. – 2006. – V. 362, № 4. – P. 753-770.

4. Xu X., Reinle W., Hannemann F., Konarev P. V., Svergun D. I., Bernhardt R., Ubbink M. Dynamics in a pure encounter complex of two proteins studied by solution scattering and paramagnetic NMR spectroscopy // J Am Chem Soc. – 2008. – V. 130, № 20. – P. 6395-6403.

5. Konarev P. V., Svergun D. I. A posteriori determination of the useful data range for small-angle scattering experiments on dilute monodisperse systems // IUCrJ. – 2015. – V. 2, № Pt 3. – P. 352-360.

6. Konarev P. V., Petoukhov M. V., Svergun D. I. Rapid automated superposition of shapes and macromolecular models using spherical harmonics // J. Appl. Cryst.– 2016. – V. 49, № Pt 3. – P. 953-960.

7. Konarev P. V., Svergun D. I. Direct shape determination of intermediates in evolving macromolecular solutions from small-angle scattering data // IUCrJ. – 2018. – V. 5, № Pt 4. – P. 402-409.

8. Konarev P. V., Petoukhov M. V., Dadinova L. A., Fedorova N. V., Volynsky P. E.,

Svergun D. I., Batishchev O. V., Shtykova E. V. BILMIX: a new approach to restore the size polydispersity and electron density profiles of lipid bilayers from liposomes using small-angle X-ray scattering data // *J. Appl. Cryst.* – 2020. – V. 53. – P. 236-243.

9. Konarev P. V., Svergun D. I. Limitations of the iterative electron density reconstruction algorithm from solution scattering data // *Nature Methods.* – 2021. – V. 18, № 3. – P. 244-245.

10. Konarev P. V., Gruzinov A. Y., Mertens H. D. T., Svergun D. I. Restoring structural parameters of lipid mixtures from small-angle X-ray scattering data // *J. Appl. Cryst.* – 2021. – V. 54, № Pt 1. – P. 169-179.

11. Kordyukova L. V., Konarev P. V., Fedorova N. V., Shtykova E. V., Ksenofontov A. L., Loshkarev N. A., Dadinova L. A., Timofeeva T. A., Abramchuk S. S., Moiseenko A. V., Baratova L. A., Svergun D. I., Batishchev O. V. The cytoplasmic tail of influenza A virus hemagglutinin and membrane lipid composition change the mode of M1 protein association with the lipid bilayer // *Membranes (Basel).* – 2021. – V. 11. – P. 772.

12. Konarev P. V., Graewert M. A., Jeffries C. M., Fukuda M., Cheremnykh T. A., Volkov V. V., Svergun D. I. EFAMIX, a tool to decompose inline chromatography SAXS data from partially overlapping components // *Protein Science.* – 2022. – V. 31. – P. 269-282.

На автореферат поступило шесть положительных отзывов, в которых отмечается, что по представленным данным и по существенному вкладу в химию и материаловедение сложных биологических систем в разном состоянии можно с полным правом судить о работе как о высококачественном теоретическом и экспериментальном исследовании. По новизне, значимости и актуальности диссертация удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России к докторским диссертациям.

Отзывы на автореферат дали:

Григорьев Сергей Валентинович (доктор физико-математических наук, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ). Отзыв на автореферат положительный, имеются три незначительных, как отмечает рецензент, замечания, касающихся синтаксических неточностей в тексте.

Кузьмичева Галина Михайловна (доктор химических наук, профессор кафедры материаловедения Института перспективных технологий и индустриального программирования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "МИРЭА — Российский технологический университет" (РТУ МИРЭА)). Отзыв на автореферат положительный, замечаний нет.

Бушуев Владимир Алексеевич (доктор физико-математических наук, профессор кафедры физики твердого тела физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова). Отзыв на автореферат положительный, имеются два незначительных, как отмечает рецензент, замечания, касающихся технических недочетов в оформлении подписей к рисункам и уточнения "области больших углов".

Щербина Максим Анатольевич (доктор физико-математических наук, доцент Института нано-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных наук и технологий (ИНБИКСТ) Московского физико-технического института (МФТИ)). Отзыв на автореферат положительный, имеются два незначительных, как отмечает рецензент, замечания, касающихся технических погрешностей в тексте.

Киселев Михаил Алексеевич (доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка Объединенного института ядерных исследований (ЛНФ ОИЯИ)). Отзыв на автореферат положительный, отмечается наличие отдельных неточных формулировок, например, на стр. 4 о восстановлении трехмерных моделей по одномерной кривой рассеяния, которая могла быть более детально сформулирована.

Гуда Александр Александрович (доктор физико-математических наук, доцент Международного исследовательского института интеллектуальных материалов Южного федерального университета (ЮФУ)). Отзыв на автореферат положительный, замечаний нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются ведущими специалистами в областях физики по теме диссертации: физике и физической химии высокомолекулярных соединений (Озерин А.Н.), моделирования биомолекулярных систем и изучения структуры белковых и липидных соединений (Ефремов Р.Г.), малоуглового

рентгеновского и нейтронного рассеяния (Авдеев М.В.). Ведущая организация имеет огромный опыт и долгую историю работы в области физики твердого тела и взаимодействия рентгеновского излучения с веществом. Все оппоненты имеют значительное число опубликованных работ в областях, общих по тематике с диссертацией.

Диссертационный совет отмечает, что разработанные автором методы анализа данных малоуглового рассеяния позволили провести детальное структурное исследование многокомпонентных смесей, в частности, определить форму неизвестных промежуточных компонентов в белковых смесях, оценить распределение липидных везикул по размерам и их мультислойную ламеллярную организацию, восстановить профили рассеяния отдельных компонентов белковых смесей, которые не удается полностью разделить с помощью хроматографических или других методов. Развитые методы позволяют анализировать состав и структуру многокомпонентных систем как в условиях отсутствия априорных сведений об изучаемой системе, так и с привлечением дополнительной информации.

С помощью разработанных подходов впервые удалось выявить случайно-столкновительный механизм образования комплекса аденодоксина с митохондриальным цитохромом; показать способность фермента люмазинсинтазы самособирается в капсулы размером от 16 до 32 нм, количественный состав которых зависит как от наличия мутаций белка, так и от изменений физико-химических условий среды; проанализировать эволюцию структурных параметров везикул димиристоилфосфатидилхолина (DMPC) в процессе экструзии, позволяющей получать узкодисперсные однослойные везикулы с радиусом (30 ± 1) нм; оценить влияние гемагглютиниана на формирование липопротеиновых нанодоменов в липидном бислое для смесей, состоящих из вирусных липидов и матричного белка M1 вируса гриппа А.

Впервые предложен подход для определения полезного углового диапазона в экспериментальных данных малоуглового рассеяния. Предложенная процедура основывается на использовании информационной теоремы Котельникова-Шеннона и учитывает как отношение сигнал/шум, так и шаг углового отсчета данных рассеяния. Новый метод оценки значимого углового диапазона измерений малоуглового рассеяния

повышает надежность получаемых результатов.

Разработан метод восстановления профилей рассеяния априори неизвестных индивидуальных компонентов на основе алгоритма эволюционного факторного анализа по набору данных малоуглового рассеяния, измеренных на выходе гель-хроматографической колонки, в условиях неполного разделения компонентов. Проведено систематическое исследование чувствительности метода в зависимости от количества компонентов, уровня шума в данных, степени перекрытия, асимметрии и соотношения амплитуд пиков концентрационных профилей компонентов. С помощью данного подхода впервые определено, что для смеси белка пируват альдолазы ее олигомерными компонентами в растворе являются гексамеры и октамеры, при этом восстановленные профили рассеяния компонентов хорошо согласуются с теоретическим рассеянием от известных кристаллических моделей белков.

Впервые описан подход по восстановлению трехмерной формы частицы неизвестного промежуточного состояния в эволюционирующей трехкомпонентной системе в случае, когда структуры начального и конечного состояний известны. Метод позволяет находить объемные доли всех компонентов смеси (с точностью до 1-5%) в каждой временной точке динамического процесса. С помощью этого алгоритма впервые была определена форма частицы промежуточного компонента в процессе образования фибрилл белка инсулина, которая подтвердила гипотезу о существовании первичной удлиняющей единицы инсулиновых амилоидных фибрилл.

Предложен новый быстрый алгоритм сравнения макромолекулярных моделей с использованием разложения теоретических амплитуд рассеяния по сферическим гармоникам и критерия корреляции в обратном пространстве, позволивший более, чем в 10 раз ускорить расчеты по сравнению с имеющимися алгоритмами. Данный алгоритм активно используется в созданном автором наборе графических приложений, позволяющем проводить интерактивную обработку и моделирование малоугловых данных от изотропных систем различной природы.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что для анализа данных МУРР от белковых и липидных смесей предложены теоретические модели и

подходы, которые описывают и объясняют полученные результаты. Ряд исследований имеет глубокую теоретическую основу. Например, разработан новый подход оценки углового диапазона экспериментальных данных МУРР/МУРН, содержащего полезную информацию. Этот подход использует информационную теорему Котельникова-Шеннона и применим для данных МУРР/МУРН от разбавленной монодисперсной системы. Показано, что усеченное шенноновское приближение дает возможность оценить информативность данных, а комбинирование критериев качества этого приближения для обратного и прямого пространств позволяет определить полезный угловой диапазон в автоматизированном режиме.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что развитые подходы позволяют более детально и эффективно изучать изменения состава и структуры белковых и липидных многокомпонентных систем в зависимости от физико-химических условий среды (рН раствора, температуры, концентрации образца, состава буферного раствора, добавления соли или лиганда и т.д.), что представляет особую важность как для диагностики и лечения болезней в медицине и фармацевтике, так и для создания новых функциональных биоматериалов, используемых в промышленности. Полученные автором результаты могут быть полезны специалистам в области молекулярной биологии, биоинженерии и биофизике, работающих на ряде естественнонаучных факультетов МГУ им. М.В. Ломоносова, СПбГУ и др., в лабораториях Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и др.

Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием современного экспериментального оборудования и программного обеспечения (в том числе разработанного автором), соответствием экспериментальных результатов теоретическим моделям и воспроизводимостью результатов. Результаты части экспериментов МУРР были подтверждены независимыми исследованиями комплементарными структурными методами. Все результаты опубликованы в ведущих международных научных журналах и прошли апробацию на различных российских и международных конференциях.

Личный вклад соискателя состоит в разработке алгоритмов, методов и программ для анализа экспериментальных данных малоуглового рассеяния, причем его участие было определяющим. Соискатель принимал активное участие в проведении экспериментов по малоугловому рентгеновскому рассеянию на синхротронных и лабораторных станциях, проводил обработку результатов экспериментов и интерпретацию полученных данных, участвовал в обобщении полученных результатов, формулировании научных выводов, а также в подготовке публикаций в научных журналах и докладов на конференциях.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие замечания 1. За большие времена экспозиции, используемые в малоугловом эксперименте, происходит вращение и перемещение исследуемых частиц, что влияет на качество получаемых данных, особенно при изменении температуры. 2. Насколько стабильными будут такие системы при использовании синхротронного рентгеновского излучения, интенсивность которого на несколько порядков превосходит лабораторные источники?

Соискатель ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы, отметив, в частности, что в малоугловом эксперименте при исследовании растворов макромолекул регистрируется усредненный сигнал, как по времени, так и по ориентациям частиц. В то же время на современных синхротронных станциях можно проводить эксперименты с разрешением в несколько миллисекунд и изучать кинетику протекания реакций. При измерениях на синхротронных станциях с высокой интенсивностью излучения действительно имеется проблема радиационного повреждения биологических образцов. Для того чтобы контролировать этот процесс, проводят съёмку набора временных кадров при короткой экспозиции с последующим их сравнением друг с другом. В качестве альтернативного подхода в буферный раствор можно добавлять стабилизирующие агенты, такие как DTT (дителиотреитол) или глицерин, которые предотвращают образование свободных радикалов и дальнейшую агрегацию белковых макромолекул.

Диссертационный совет заключает, что диссертация Конарева П.В. является самостоятельной завершённой научной работой, совокупность результатов которой можно квалифицировать как значительное научное достижение. Работа Конарева П.В.

полностью отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора физико-математических наук в соответствии с Положением о присуждении ученых степеней Постановления Правительства РФ от 24.09.2013г. № 842.

На заседании 21 мая 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Конареву П.В. ученую степень доктора физико-математических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человека, из них 21 доктор наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» - 18, «против» - 2, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель диссертационного совета,
чл.-корр. РАН



Левченко Александр Алексеевич

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор физико-математических наук

Гаврилов Сергей Сергеевич

23 мая 2024 г.