

Заключение диссертационного совета МГУ.011.1
по диссертации на соискание учёной степени доктора наук

Решение диссертационного совета от «23» декабря 2022 г. № 69
О присуждении Пенькову Никите Викторовичу, гражданину Российской Федерации,
учёной степени доктора физико-математических наук

Диссертация «Молекулярная организация водных растворов биомолекул» по специальностям 1.5.2 – Биофизика и 1.1.10 – «Биомеханика и биоинженерия» (физико-математические науки) принята к защите диссертационным советом 21 октября 2022 г., протокол № 66.

Соискатель - Пеньков Никита Викторович, 1983 г. рождения, в 2014 году защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук «Особенности терагерцовых спектров поглощения воды и водных растворов электролитов» в диссертационном совете Д 002.093.01, созданном на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук по специальности 03.01.02 - Биофизика (физико-математические науки). Данные диплома: КНД № 004554, 3.03 2015 г., Министерство образования и науки Российской Федерации.

В настоящее время Пеньков Никита Викторович работает в должности и.о. заведующего лабораторией методов оптико-спектрального анализа, Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН».

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН».

Официальные оппоненты:

1. Лобышев Валентин Иванович, доктор физико-математических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», физический факультет, кафедра биофизики, профессор.

2. Волков Александр Александрович, доктор физико-математических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук», отдел субмиллиметровой спектроскопии, главный научный сотрудник.

3. Погорелов Александр Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, главный научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией функциональной микроскопии биоструктур.

Выбор официальных оппонентов обоснован их компетентностью в области молекулярной организации водных растворов биомолекул, что подтверждается наличием публикаций в этой сфере исследований. На диссертацию и автореферат поступило 4 дополнительных отзыва. Отзывы положительные.

Соискателем опубликовано всего 59 статей. По теме диссертации опубликовано всего 54 статьи, из них 54 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в

базах Web of Science, Scopus, RSCI.

Основные публикации автора по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах Web of Science, Scopus, RSCI:

1. Penkov N.V. Relationships between molecular structure of carbohydrates and their dynamic hydration shells revealed by terahertz time-domain spectroscopy // *Int. J. Mol. Sci.*, 2021. Vol. 22, N. 21, pp. 11969-11988. DOI: 10.3390/ijms222111969. IF по Scopus 5,838.
2. Penkova N.A., Sharapov M.G., Penkov N.V. Hydration shells of DNA from the point of view of terahertz time-domain spectroscopy // *Int. J. Mol. Sci.*, 2021. Vol. 22, N. 20, pp. 11089-11104. DOI: 10.3390/ijms222011089. IF по Scopus 5,838.
3. Dubinin M.V., Semenova A.A., Ilzorkina A.I., Markelova N.Y., Penkov N.V., et al. New quaternized pyridinium derivatives of betulin: synthesis and evaluation of membranotropic properties on liposomes, pro- and eukaryotic cells, and isolated mitochondria // *Chemico-Biological Interactions*, 2021. Vol. 349, p. 109678. DOI: 10.1016/j.cbi.2021.109678. IF по Scopus 4,512.
4. Bobkova N.V., Zhdanova D.Y., Belosludtseva N.V., Penkov N.V., Mironova G.D. Intranasal administration of mitochondria improves spatial memory in olfactory bulbectomized mice // *Experimental Biology and Medicine*, 2021. Vol. 246, pp. 1-10. DOI: 10.1177/15353702211056866. IF по Scopus 3,438.
5. Penkov N.V., Goltyaev M.V., Astashev M.E., Serov D.A., Moskovskiy M.N., et al. The application of terahertz time-domain spectroscopy to identification of potato late blight and fusariosis // *Pathogens*, 2021. Vol. 10, N. 10, pp. 1336-1350. DOI: 10.3390/pathogens10101336. IF по Scopus 3,406.
6. Penkov N.V. Antibodies processed using high dilution technology distantly change structural properties of IFN γ aqueous solution // *Pharmaceutics*, 2021. Vol. 13, N. 11, pp. 1864-1877. DOI: 10.3390/pharmaceutics13111864. IF по Scopus 6,072.
7. Penkov N.V., Penkova N. Key differences of the hydrate shell structures of ATP and Mg·ATP revealed by terahertz time-domain spectroscopy and dynamic light scattering // *Journal of Physical Chemistry B*, 2021. Vol. 125, pp. 4375-4382. DOI: 10.1021/acs.jpcc.1c02276. IF по Scopus 2,994.
8. Penkov N.V., Penkova N.A. Effective medium model applied to biopolymer solutions // *Applied Spectroscopy*, 2021. Vol. 75, N. 12, pp. 1510-1515. DOI: 10.1177/00037028211042027. IF по Scopus 2,158.
9. Sarimov R.M., Binhi V.N., Matveeva T.A., Penkov N.V., Gudkov S.V. Unfolding and aggregation of lysozyme under the combined action of dithiothreitol and guanidine hydrochloride: optical studies // *Int. J. Mol. Sci.*, 2021. Vol. 22, p. 2710. DOI: 10.3390/ijms22052710. IF по Scopus 5,838.
10. Dubinin M.V., Semenova A.A., Ilzorkina A.I., Penkov N.V., Nedopekina D.A., et al. Mitochondria-targeted prooxidant effects of betulinic acid conjugated with delocalized lipophilic cation F16 // *Free Radical Biology and Medicine*, 2021. Vol. 168, pp. 55–69. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.03.036. IF по Scopus 6,857.
11. Bunkin N.F., Shkirin A.V., Penkov N.V., Goltayev M.V., Ignatiev P.S., et al. Effect of gas type and its pressure on nanobubble generation // *Frontiers in Chemistry*, 2021. Vol. 9, p. 630074. DOI: 10.3389/fchem.2021.630074. IF по Scopus 4,749.

12. Penkov N.V., Yashin V.A., Belosludtsev K.N. Hydration shells of DPPC liposomes from the point of view of terahertz time-domain spectroscopy // *Applied Spectroscopy*, 2021. Vol. 75, N. 2, pp. 189-198. DOI: 10.1177/0003702820949285. IF по Scopus 2,158.
13. Penkov N., Fesenko E. Development of terahertz time-domain spectroscopy for properties analysis of highly diluted antibodies // *Applied Sciences*, 2020. Vol. 10, N. 21, p. 7736. DOI: 10.3390/app10217736. IF по Scopus 3,104.
14. Gudkov S.V., Penkov N.V., Baimler I.V., Lyakhov G.A., Pustovoy V.I., et al. Effect of mechanical shaking on the physicochemical properties of aqueous solutions // *Int. J. Mol. Sci.*, 2020. Vol. 21, N. 21, p. 8033. DOI: 10.3390/ijms21218033. IF по Scopus 5,838.
15. Penkov N., Penkova N. Measurement of the emission spectra of protein solutions in the infrared range. Description of the method and testing using solution of human interferon gamma as an example // *Frontiers in Physics*, 2020. Vol. 8, p. 615917. DOI: 10.3389/fphy.2020.615917. IF по Scopus 4,524.
16. Penkov N., Penkova N. Analysis of emission infrared spectra of protein solutions in low concentrations // *Frontiers in Physics*, 2020. Vol. 8, p. 624779. DOI: 10.3389/fphy.2020.624779. IF по Scopus 4,524.
17. Penkov N.V. Temporal dynamics of the scattering properties of deionized water // *Physics of Wave Phenomena*, 2020. Vol. 28, N. 2, pp. 135–139. DOI: 10.3103/S1541308X20020132. IF по Scopus 0,954.
18. Bunkin N.F., Shkirin A.V., Penkov N.V., Chirikov S.N., Chaikov L.L., et al. Characteristics of protein aggregation and flotation in water and alcohol-water mixture // *Physics of Wave Phenomena*, 2020. Vol. 28, N. 2, pp. 145–149. DOI: 10.3103/S1541308X20020043. IF по Scopus 0,954.
19. Penkov N.V. Peculiarities of the perturbation of water structure by ions with various hydration in concentrated solutions of CaCl₂, CsCl, KBr, and KI // *Physics of Wave Phenomena*, 2019. Vol. 27, N. 2, pp. 128–134. DOI: 10.3103/S1541308X19020079. IF по Scopus 0,954.
20. Penkov N., Yashin V., Fesenko E. (Jr.), Manokhin A., Fesenko E. A study of the effect of a protein on the structure of water in solution using terahertz time-domain spectroscopy // *Applied Spectroscopy*, 2018. Vol. 72, N. 2, pp. 257–267. DOI: 10.1177/0003702817735551. IF по Scopus 2,158.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная проблема, что можно квалифицировать как научное достижение. На основании выполненных автором исследований впервые:

- Разработан новый подход для изучения гидратации любых типов биомолекул в растворах на основе ТГц спектроскопии временного разрешения. Обнаружены особенности гидратации фосфолипидных липосом в зависимости от их фазового состояния, причём оказалось, что наиболее сильные изменения гидратации происходят в результате предперехода, а не основного перехода фосфолипида. Показано, что влияние липосомы на воду простирается на расстояние более 5 нм от её поверхности. Получены новые данные о строении гидратной оболочки АТФ, демонстрирующие существенные отличия в зависимости от связывания АТФ с ионом Mg²⁺.
- Показано, что гидратная оболочка ДНК отличается от невозмущённой воды наличием трёх фракций молекул воды: более сильно связанные, фракция с большим количеством свободных молекул и фракция с большим числом водородных связей.

Показаны различия влияния ионов Mg^{2+} и K^+ на гидратацию ДНК. Получен ряд новых данных, вскрывающих корреляции между структурой сахаров и характеристиками их гидратных оболочек. Показано, что гидратация ДНК выражена сильнее, чем у отдельных нуклеотидов, тогда как гидратация полисахаридов, наоборот, слабее, чем у моносахаридов.

- Получена теоретическая модель эффективной среды для двухфазных диэлектриков с нитевидными включениями, применимая для анализа водных растворов протяжённых биополимеров в терагерцовой и более низкочастотной области.
- Описан новый метод ИК спектроскопии собственного излучения с использованием холодного фона. Он не требует какого-либо возбуждения образца и может использоваться для неинвазивного структурного анализа биомолекул в водных растворах.
- Предложен алгоритм, позволяющий идентифицировать наличие фракции нанопузырьков, как правило, присутствующих в водных растворах биомолекул, и создающих затруднения в интерпретации распределений по размерам.

Разработана теоретическая модель эффективной среды для двухфазного диэлектрика с нитевидными включениями. Данная модель может применяться для анализа комплексных диэлектрических проницаемостей водных растворов протяжённых биополимеров (нуклеиновых кислот, фибриллярных белков и фибриллярных белковых агрегатов, полисахаридов) в ТГц диапазоне, а также при более низких частотах. Описана методология на основе ТГц спектроскопии временного разрешения, позволяющая изучать гидратацию биомолекул в растворах и интерпретировать полученные данные с использованием параметров межмолекулярной структуры и динамики воды. Описанная модификация метода ИК спектроскопии, позволяющая измерять характеристические спектры собственного излучения изучаемых образцов, расширяет возможности применения данного метода с использованием стандартных спектрометров с Фурье-преобразованием. Спектроскопия собственного излучения в ряде случаев обладает большей чувствительностью по сравнению с абсорбционным аналогом. Для измерения спектров не требуется возбуждение образца, что имеет значение для чувствительных к различным внешним факторам (в том числе, ИК излучению) объектов исследования.

Метод

может применяться для анализа структуры биомолекул в растворах. Метод динамического светорассеяния широко применяется для изучения биомолекул в водных растворах, однако при этом возможно наличие артефакта, обусловленного присутствием нанопузырьковой фазы. Предложенный в работе алгоритм позволяет идентифицировать упомянутый артефакт.

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) Разработанная теоретическая модель эффективной среды может применяться для водных растворов протяжённых биополимеров при анализе их комплексных диэлектрических проницаемостей в области ТГц частот.
- 2) Разработан подход на основе ТГц спектроскопии временного разрешения, предназначенный для исследования гидратации биомолекул в водных растворах в терминах межмолекулярной структуры и динамики воды. С его помощью были установлены новые характеристики гидратации следующих типов биомолекул: белка в

различных конформациях; фосфолипидных липосом в различных фазовых состояниях; АТФ и комплекса Mg·АТФ; ДНК в релаксированной форме в воде и при наличии ионов Mg²⁺ и K⁺; моно- и полисахаридов.

3) Разработан метод эмиссионной ИК спектроскопии с холодным фоном, не требующий какого-либо возбуждения исследуемых образцов. Данный подход является альтернативой классической абсорбционной ИК спектроскопии, позволяя проводить молекулярный анализ, в том числе, биомолекул в растворе. Метод покрывает область основных частот молекулярных колебаний и в несколько раз превосходит традиционную ИК спектроскопию поглощения по чувствительности. Не требуя источника возбуждения, метод может применяться для анализа любых образцов, в том числе и чувствительных к ИК излучению.

4) При измерении распределений по размерам биомолекул в водных растворах методом динамического светорассеяния возможно появление артефактной фракции с субмикронными размерами, относящейся к нанопузырькам, обычно присутствующим в водных растворах. Впервые предложен алгоритм, позволяющий определить принадлежность данной фракции к нанопузырькам на основе сравнения её интенсивности рассеяния с интенсивностью рассеяния растворителя.

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается использованием проверенных методов исследования и теоретических подходов. Все эксперименты проводились в достаточном количестве независимых повторов; использовались необходимые контроли. Анализ данных проводился с применением адекватных методов статистической обработки. Статистическая значимость отличий параметров оценивалась не перекрытию 95% доверительных интервалов средних.

На заседании диссертационный совет принял решение присудить Пенькову Н. В. ученую степень доктора физико-математических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, участвовавших в заседании (из 25 человек, входящих в состав совета), из них 10 докторов наук по специальности «Биофизика» и 7 докторов наук по специальности «Биомеханика и биоинженерия» (физико-математические науки) проголосовали: за - 17, против - 0, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель диссертационного совета
д.ф.-м.н., профессор

Твердислов В.А.

Учёный секретарь диссертационного совета
к.т.н., доцент

Сидорова А.Э.

9.01.2023