



УТВЕРЖДАЮ
Ректор НИЯУ МИФИ
доктор физ.-мат. наук
В.И. Шевченко
« 8 » апреля 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Национальный исследовательский ядерный
университет «МИФИ»

на диссертационную работу Конарева Петра Валерьевича **«Развитие и применение методов анализа данных малоуглового рентгеновского рассеяния многокомпонентными биологическими системами»**, представленную на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.3.8 – Физика конденсированного состояния в диссертационный совет 24.1.136.01 (Д 002.100.02) при Институте физики твердого тела имени Ю.А. Осипьяна Российской академии наук.

Диссертация П.В. Конарева посвящена развитию алгоритмов и программного обеспечения, предназначенного для количественного анализа состава и структуры многокомпонентных некристаллических систем широкого спектра с помощью неразрушающих методов исследования, таких как малоугловое рентгеновское и нейтронное рассеяние (МУРР/МУРН). К таким системам относятся как биологические объекты (растворы белков и их комплексов, пептиды и нуклеиновые кислоты, липидные везикулы и липид-белковые смеси), так и сложные композитные и органические системы (растворы стабилизированных наночастиц, микроэмульсии, гели, полимерные соединения). Данные соединения зачастую имеют ряд специфических особенностей, среди которых одна из самых важных — полидисперсность по

форме и размерам частиц, тесно связанная с функциональными свойствами исследуемых систем. Здесь важно отметить, что даже для идентичных частиц в растворе анализ данных МУРР неоднозначен вследствие потери значительной части информации при усреднении по всем ориентациям в пространстве, а в случае полидисперсных систем этот эффект дополнительно усиливается еще и за счет наличия распределения частиц по размерам. Поэтому **актуальность** темы исследований диссертационной работы П.В.Конарева определяется необходимостью развития надежных подходов интерпретации данных МУРР при исследовании таких сложных систем.

Диссертационная работа состоит из введения, семи глав, выводов, приложения с указанием программного обеспечения, разработанного автором, списка публикаций по теме диссертации и списка цитированной литературы из 240 источников. Общий объем составляет 371 страницу, включая 99 рисунков и 23 таблицы.

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, определены новизна и практическая значимость, изложены положения, выносимые на защиту.

В первой главе изложена краткая история становления метода рентгеновского малоуглового рассеяния, описаны теоретические основы метода, приведены схемы экспериментальных установок, используемых для получения экспериментальных данных, включая как лабораторные дифрактометры, так и синхротронные станции. Далее подробно описаны основные подходы и имеющиеся программы по обработке экспериментальных данных, оценке структурных параметров и моделированию трехмерных структур макромолекулярных комплексов. При этом, особенно детально рассмотрена оценка эффективности *ab initio* методов восстановления формы макромолекулярных комплексов с неоднородной электронной плотностью.

Во второй главе представлен новый автоматизированный алгоритм определения оптимального углового диапазона данных МУРР/МУРН с

использованием теоремы Котельникова-Шеннона для разбавленных монодисперсных систем, позволяющий проводить надежную оценку структурных параметров частиц, что улучшает эффективность работы алгоритмов восстановления 3D формы частицы. Предложенная процедура учитывает как отношение сигнал/шум, так и шаг углового отсчета данных МУРР/МУРН.

В третьей главе рассмотрен ряд подходов, позволяющих проводить количественный анализ сложных многокомпонентных и полидисперсных смесей по данным МУРР/МУРН. С помощью разработанных методов можно определять число независимых компонентов, оценивать их объемные доли при наличии информации об атомных структурах компонентов, определять функции распределения частиц по размерам и параметры межчастичного взаимодействия при аппроксимации формы компонентов простыми геометрическими телами. С помощью разработанных подходов впервые удалось выявить случайно-столкновительный механизм образования комплекса аденодоксина с митохондриальным цитохромом, а также показать способность фермента люмазинсинтазы самособираться в икосаэдрические капсулы, количественный состав которых зависит как от наличия мутаций белка, так и изменений физико-химических условий среды (таких как кислотность раствора и состав растворителя).

В четвертой главе описан подход, позволяющий проводить количественный анализ состава липидных и липид-белковых смесей по данным МУРР, в том числе восстанавливать профили электронной плотности липидного бислоя, распределения везикул по размерам, оценивать мультислойную организацию липидных везикул и исследовать их взаимодействие с белковыми макромолекулами. Проанализирована эволюция структурных параметров везикул димиристоилфосфатидилхолина в процессе экструзии, позволяющей получать узкодисперсные однослойные везикулы. Оценено влияние гемагглютинаина на формирование липопротеиновых

нанодоменов в липидном бислое, для смесей, состоящих из вирусных липидов и матричного белка М1 вируса гриппа А.

Пятая глава посвящена новому подходу 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 разработанного алгоритма определена форма частицы промежуточного компонента в процессе образования фибрилл белка инсулина, которая подтвердила гипотезу о существовании первичной удлиняющей единицы инсулиновых амилоидных фибрилл.

В шестой главе приведен метод восстановления индивидуальных профилей рассеяния компонент на основе алгоритма эволюционного факторного анализа для случаев трудноразделимых белковых смесей с перекрывающимися пиками выхода компонентов из гель-хроматографической колонки при ее сочетании с малоугловыми измерениями. Выполнено систематическое исследование чувствительности метода в зависимости от количества компонентов, уровня шума в данных МУРР, степени перекрытия, асимметрии и соотношения амплитуд пиков концентрационных профилей компонентов. С помощью данного подхода определено, что для смеси белка пируват альдозазы ее олигомерными компонентами в растворе являются гексамеры и октамеры, при этом восстановленные профили рассеяния компонент хорошо согласуются с теоретическим рассеянием от известных кристаллических моделей белков.

В седьмой главе описана многофункциональная графическая платформа, позволяющая проводить интерактивную обработку и моделирование малоугловых данных от изотропных систем. Она охватывает широкий спектр задач от первичной обработки данных МУРР/МУРН до моделирования

трехмерных структур макромолекулярных комплексов и количественного анализа сложных многокомпонентных полидисперсных систем с использованием больших наборов экспериментальных данных. Представлен новый быстрый алгоритм суперпозиции макромолекулярных моделей с использованием разложения на сферические гармоники и критерием корреляции в обратном пространстве, позволивший более, чем на порядок ускорить расчеты по сравнению с имеющимися алгоритмами.

В заключении сформулированы основные результаты и выводы.

Диссертационная работа П.В. Конарева обладает несомненной **научной новизной**. Примененный в диссертационной работе подход по восстановлению трехмерной формы частицы неизвестного промежуточного состояния в эволюционирующей трехкомпонентной системе позволил впервые определить форму частицы промежуточного компонента в процессе образования фибрилл белка инсулина, которая подтвердила гипотезу о существовании первичной удлиняющей единицы инсулиновых амилоидных фибрилл. Кроме того, с помощью разработанных алгоритмов и программ впервые удалось выявить случайно-столкновительный механизм образования комплекса аденодоксина с митохондриальным цитохромом, а также показать способность фермента люмазинсинтазы самособирается в капсулы, количественный состав которых зависит как от наличия мутаций белка, так и изменений физико-химических условий среды.

Выявленные в диссертационной работе закономерные связи между компонентным составом и функциональными свойствами растворов белковых и липид-белковых смесей являются важной основой для разработки фосфолипидных транспортных наносистем с целью направленной доставки лекарственных препаратов в организм человека, используемых, в частности, в Институте биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича (ИБМХ, Москва, Россия), что определяет **практическую значимость** проведенных 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.

Диссертационная работа П.В. Конарева прошла многократную **апробацию**: опубликованы 117 статей в российских и международных рецензируемых журналах, входящих в список ВАК, результаты диссертационного исследования докладывались и обсуждались на многочисленных российских и международных научных конференциях.

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.

Высокий индекс цитируемости основных публикаций автора, посвященных методическим разработкам, свидетельствует о научной новизне полученных в работе результатов. Разработанные с участием соискателя программы анализа данных малоуглового рассеяния входят в свободно распространяемый и хорошо известный в мире пакет ATSAS, что обуславливает практическую значимость работы и существенность ее вклада в методы анализа многокомпонентных систем.

При общем положительном впечатлении от диссертационной работы П.В. Конарева имеются, тем не менее, следующие **вопросы и замечания**:

1 Реально ли использовать предложенный автором алгоритм оценки полезного углового диапазона данных МУРР/МУРН не только апостериорно (постфактум, после проведения эксперимента), а еще при планировании малоуглового эксперимента и выборе оптимальных значений параметров съемки?

2 Имеется ли возможность расширения разработанного подхода по восстановлению трехмерной формы неизвестного промежуточного состояния в эволюционирующей системе с исследования двух/трехкомпонентных систем на анализ четырехкомпонентных систем?

3 Насколько правомерно не учитывать влияние других оболочечных белков вируса гриппа А помимо гемагглютинина (например, белка нейроаминидазы и белка М2) на формирование липопротеиновых нанодоменов в липидном бислое, для смесей, состоящих из протеолипосом и матричного белка М1 вируса гриппа А?

4 В тексте автореферата не приведены полные названия липидных молекул DMPC и DPPC – димиристоилфосфатидилхолин и дипальмитоилфосфатидилхолин, соответственно.

5. На стр. 23 автореферата при описании размеров икосаэдрических капсул использованы Ангстремы, тогда как в Таблице 3, а также в остальных частях текста размеры частиц приведены в нанометрах, было бы корректнее использовать единообразные обозначения.

Однако указанные замечания, часть из которых носит характер пожеланий, не снижают общую высокую оценку работы.

Учитывая сказанное выше, можно сделать вывод, что диссертационная работа П.В. Конарева является законченным исследованием, включающим подробное рассмотрение предложенных методических подходов, и критический анализ результатов исследований для широкого ряда образцов.

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. Тема и содержание диссертации соответствует научным направлениям, рассматриваемым на Диссертационном совете 24.1.136.01 (Д 002.100.02) при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте физики твердого тела имени Ю.А. Осипяна Российской академии наук. Научные положения, выносимые на защиту, сформулированы правильно и обоснованно. Многочисленные рисунки и графики хорошо иллюстрируют основные результаты и выводы.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и представленным в ней основным результатам и выводам.

Заключение

Принимая во внимание отмеченную актуальность проведенных в работе исследований, новизну, научную и практическую значимость полученных результатов, которые являются значительным вкладом в развитие методологии изучения строения вещества, представленная к защите диссертационная работа **«Развитие и применение методов анализа данных малоуглового рентгеновского рассеяния многокомпонентными биологическими системами»** удовлетворяет всем требованиям Постановления правительства Российской Федерации о порядке присуждения ученых степеней от 24.09.3013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Конарев Петр Валерьевич, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 1.3.8 - "физика конденсированного состояния".

Диссертация П.В. Конарева и отзыв ведущей организации заслушаны, обсуждены и одобрены на совместном заседании кафедры физики твердого тела и наносистем (№70) и научном семинаре Института лазерных и плазменных технологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (протокол №5 от 14 марта 2024 г.). Отзыв одобрен единогласно участвовавшими в заседании специалистами путем открытого голосования: «за» - 31 человек, «против» - 0 человек (нет), «воздержались» - 0 человек (нет).

Отзыв составил:

Менушенков Алексей Павлович, д.ф.-м.н. по специальности 01.04.07 – Физика конденсированного состояния, профессор кафедры физики твердого тела и наносистем Института лазерных и плазменных технологий Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ».

«4» апреля 2024 г.



А.П. Менушенков

Заведующий кафедрой физики
твердого тела и наносистем,
№ 70 НИЯУ МИФИ
д.ф.-м.н., доцент



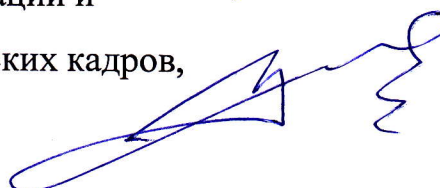
И.А. Руднев

Директор Института лазерных и
плазменных технологий НИЯУ МИФИ,
д. ф.-м.н., доцент



А. П. Кузнецов

Председатель Совета по аттестации и
подготовке научно-педагогических кадров,
д. ф.-м. н., профессор



Н. А. Кудряшов

Почтовый адрес: 115409, г. Москва, Каширское ш., д. 31

Телефон: +7(495) 788 56 99, доб. 9020

Адрес электронной почты: iarudnev@mephi.ru

Организация – место работы: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»;

web-сайт организации:
<http://www.mephi.ru>