



Научная новизна работы заключается в том, что впервые изучено изменение фазового состояния, структуры, раствора лизоцима при добавлении хлорида натрия, приводящего к росту кристаллов. Определен олигомерный состав кристаллизационного раствора в широком диапазоне условий. Впервые исследовано влияние температуры, концентрации и типа растворителя на структуру кристаллизационного раствора лизоцима.

В диссертационной работе Ильина К.Б. подробно описала проблемы и трудности кристаллизации. Первая глава диссертационной работы посвящена обзору литературы, в котором описаны основные методы исследования белковых растворов, особое внимание уделено исследованиям процессов агрегации и кристаллизации белков.

Вторая глава посвящена описанию процедур приготовления образцов, кристаллизации лизоцима тетрагональной сингонии и поиску условий кристаллизации. Также описаны методики исследования структуры кристаллизационных растворов лизоцима с помощью методов малоуглового рассеяния нейтронов и рентгеновских лучей (МУРН и МУРР соответственно) и обработка экспериментальных данных.

В третьей главе представлены результаты поиска условий кристаллизации и исследование структуры кристаллизационных растворов лизоцима. Олигомерный состав кристаллизационного раствора лизоцима исследовался методом МУРР. В главе показано, как меняется структура раствора, концентрация олигомеров, в зависимости от изменения температуры и концентрации белка. Обнаружено, что, когда происходит рост кристаллов лизоцима тетрагональной сингонии, в растворе образуются определенные олигомеры. При этом эти олигомеры имеют структуру, соответствующую кристаллической структуре лизоцима. В кристаллизационном растворе лизоцима существуют только мономеры, димеры и октамеры, другие олигомеры не были обнаружены в исследуемых диапазонах концентраций и температур.

Четвертая глава посвящена результатам исследования структуры растворов лизоцима методом МУРН. Результаты, полученные в четвертой главе, подтверждают результаты, полученные в главе 3. Подтверждено образование устойчивой фазы из октамеров лизоцима при росте кристаллов лизоцима тетрагональной сингонии. Увеличение концентрации белка и понижение температуры приводит к увеличению концентрации октамеров в кристаллизационном растворе лизоцима.

Пятая глава посвящена исследованию структуры кристаллизационных растворов лизоцима в дейтерированной воде методом МУРР. Проведено сравнение оказываемого влияния двух типов растворителей на структуру растворов лизоцима при росте кристаллов тетрагональной фазы. Обнаружено, что объемная доля октамеров в кристаллизационном растворе лизоцима в дейтерированной воде выше, чем в растворе протонированной.

Каждая глава диссертационной работы включает заключение, которое акцентирует внимание на основных результатах и способствует лучшему пониманию материала. Диссертационная работа заканчивается выводами. Основные результаты работы можно кратко сформулировать следующими заключениями. В кристаллизационном растворе лизоцима (условия роста кристаллов тетрагональной сингонии) присутствуют помимо мономеров, димеры и октамеры, соответствующие структуре кристаллов данного белка, выращенного в этих же условиях. Добавление в качестве осадителя хлорида натрия к раствору лизоцима приводит к образованию устойчивой фазы из октамеров лизоцима. В случае, когда кристаллизация невозможна, раствор состоит преимущественно из отдельных молекул лизоцима. Было изучено влияние важнейших параметров кристаллизации: температуры, концентрации белка и типа растворителя. Обнаружено, что объемная доля октамеров увеличивается при понижении температуры и увеличении концентрации белка. Также было показано, что объемная доля октамеров в кристаллизационном растворе лизоцима, где растворителем являлась

дейтерированная вода, значительно превышает объемную долю таких же олигомеров в протонированной воде. При этом равная концентрация октамеров в кристаллизационном растворе лизоцима в дейтерированной и протонированной воде обнаружена, когда температура раствора в протонированной воде на 10 °С ниже, чем в дейтерированной воде.

Результаты работы помимо фундаментальной значимости имеют и практическое применение. Исследование закономерностей роста белковых кристаллов позволит усовершенствовать процесс и сократить время поиска условий кристаллизации, получения кристаллов и определения структуры белковых молекул.

В диссертационной работе Ильиной К.Б. используются самые современное оборудование и уникальные подходы. Достоверность результатов была подтверждена большим объемом экспериментальных данных, полученных на современных мегаустановках (источниках синхротронного и нейтронного излучений: Европейский центр синхротронного излучения, станция BM29 BioSAXS; НИЦ «Курчатовский институт», станция Дикси; Объединенный Институт Ядерных Исследований, станция ЮМО ИБР-2), использованием современного программного обеспечения для обработки полученных данных, апробированного в аналогичных исследованиях белковых растворов методами МУРР и МУРН, а также представлением результатов в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК (3 статьи) и на российских и международных конференциях (13 публикаций).

Личный вклад Ильиной К.Б. состоит в подборе условий экспериментов, изготовлении исследуемых образцов, непосредственном участии в проведении экспериментов и анализе полученных результатов.

По Диссертации Ильиной К.Б. можно сделать следующие замечания:

– В главе 3 приведены результаты кристаллизации лизоцима в протонированной воде в широком диапазоне условий. А Результаты кристаллизации в дейтерированной воде показаны только при тех условиях, в которых проводился эксперимент МУРН. Возможно, следовало бы провести кристаллизацию в дейтерированной воде в таком же широком диапазоне условий для получения более полной картины.

– В работе приведено исследование влияние концентрации белка на структуру раствора лизоцима. Интересно было бы увидеть, есть ли зависимость объемной доли октамеров от концентрации осадителя.

– В тексте обнаружены не искажающие смысла опечатки, ошибки и некоторые неточности: на рис. 4.4. отсутствует подпись к оси x, а на рис. 3.11. на графике неверно указана размерность «Å»; в оглавлении присутствует неверная нумерация.

Сделанные замечания не снижают общей положительной оценки диссертации, ее научной и практической значимости. Диссертационная работа Ильиной К.Б. представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, соответствующую всем критериям и требованиям раздела II «Положения о присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г №842, а ее автор, Ильина Ксения Борисовна, заслуживает присуждения степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07 – «Физика конденсированного состояния»

Диссертационная работа Ильиной К.Б. «Закономерности изменения структуры растворов белка лизоцима при росте кристаллов тетрагональной сингонии» заслушана и обсуждена на заседании семинара кафедры материаловедения полупроводников и диэлектриков Национального исследовательского технологического университета «МИСиС», протокол № 9/19 от 07 ноября 2019 года.

Отзыв заслушан и утвержден на заседании семинара кафедры материаловедения полупроводников и диэлектриков Национального исследовательского технологического университета «МИСиС» протокол №10/19 от 19 декабря 2019 года.

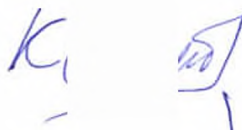
Отзыв составил:

Д.ф.-м.н., профессор



В.Т. Бублик

К.ф.-м.н., ведущий инженер



К.Д. Щербачев

Уч. Секретарь кафедры МПид, к.ф.-м.н.



И.С. Диденко

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС».

Адрес: 119049, г. Москва, Ленинский проспект, д. 4. Тел.: +7(495) 955-00-32

Оф. сайт: <https://misis.ru/> E-mail: [kancela@misis.ru](mailto:kancela@misis.ru)