

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.037.01,

созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 14.10.2026 № 23

О присуждении **Семеновой Марине Андреевне**, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярный механизм взаимодействия нейтропротекторного белка нейроглобина с цитохромом *c*» по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология принята к защите 10 июня 2026 г. (протокол заседания № 13) диссертационным советом 24.1.037.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН), 117437, г. Москва, вн.тер. г муниципальный округ Коньково, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, к. 1, действующим на основании Приказа Минобрнауки России № 75/нк от 15.02.2013 г., а также Приказа Минобрнауки № 561 от 03.06.2021 г.

Соискатель Семенова Марина Андреевна 29 апреля 1998 года рождения. В 2021 году окончила магистратуру Биологического факультета ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова по специальности 06.04.01. «Биология», в 2025 г. окончила аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН) по направлению 1.5.3 – Молекулярная биология. В настоящее время работает младшим научным сотрудником лаборатории инженерии белка Отдела биоинженерии ГНЦ ИБХ РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории инженерии белка Отдела биоинженерии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им.

академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН).

Научный руководитель – кандидат биологических наук **Черткова Рита Валерьевна**, старший научный сотрудник лаборатории инженерии белка Отдела биоинженерии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН).

Официальные оппоненты:

Топунов Алексей Федорович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук; **Горин Дмитрий Александрович**, доктор химических наук, профессор по специальности биофизика, профессор Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Сколковский институт науки и технологии» дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук (Институт белка РАН), Московская область, г. Пущино, в своем *положительном* отзыве, подписанном руководителем группы спектроскопии белка, доктором физико-математических наук Мельником Богданом Степановичем, и утвержденном директором, доктором биологических наук Колбом Вячеславом Адамовичем, указала, что диссертация Семеновой М.А. соответствует всем критериям (в том числе п. 9), установленным "Положением о присуждении ученых степеней" (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 со всеми изменениями Постановлений Правительства РФ), а сам диссертант несомненно заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 - Молекулярная биология.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 7 работ общим объемом 10,12 печ.л. Все работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях из списка, рекомендованного Министерством науки и высшего образования РФ для опубликования результатов диссертаций. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Научные работы по теме диссертации, в которые Семенова М.А. внесла основной либо существенный вклад, включают:

1. Bochkova Z.V.*, **Semenova M.A.***, Smirnova O.M., Maksimov G.V., Rubin A.B.,

Kirpichnikov M.P., Dolgikh D.A., Chertkova R.V., Brazhe N.A. The molecular mechanism of

- redox interaction between neuroglobin and cytochrome *c*. // Int. J. Biol. Macromol. 2025. V. 318. P. 145040. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.145040>
2. **Semenova M.A.***, Bochkova Z.V.*, Smirnova O.M., Maksimov G.V., Kirpichnikov M.P., Dolgikh D.A., Brazhe N.A., Chertkova R.V. Charged amino acid substitutions affect conformation of neuroglobin and cytochrome *c* heme groups. // Curr. Issues Mol. Biol. 2024. V. 46. P. 3364–3378. <https://doi.org/10.3390/cimb46040211>
 3. **Semenova M.A.***, Chertkova R.V.*, Kirpichnikov M.P., Dolgikh D.A. Molecular interactions between neuroglobin and cytochrome *c*: possible mechanisms of antiapoptotic defence in neuronal cells. // Biomolecules. 2023. V. 13. P. 1233. <https://doi.org/10.3390/biom13081233>
 4. Chertkova R.V., Oleynikov I.P., Pakhomov A.A., Sudakov, R.V., Orlov V.N., **Semenova M.A.**, Arutyunyan A.M., Ptushenko V.V., Kirpichnikov M.P., Dolgikh D.A., Vygodina T.V. Mutant cytochrome *c* as a potential detector of superoxide generation: effect of mutations on the function and properties. // Cells. 2023. V. 12. P. 2316. <https://doi.org/10.3390/cells12182316>
 5. **Semenova M.A.**, Smirnova O.M., Ignatova A.A., Parshina E.Y., Maksimov G.V., Kirpichnikov M.P., Dolgikh D.A., Chertkova R.V. Development of mutant forms of neuroglobin with substitutions in the interaction surface with cytochrome *c*. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2023. V. 49. P. 1483–1488. <https://doi.org/10.1134/S1068162023060274>
 6. **Семенова М. А.**, Бочкова Ж. В., Смирнова О. М., Игнатова А. А., Паршина Е. Ю., Зиганшин Р. Х., Бочаров Э. В., Браже Н. А., Максимов Г. В., Кирпичников М. П., Долгих Д. А., Черткова Р. В. Разработка системы биосинтеза, выделения и очистки холоформы рекомбинантного нейроглобина и его физико-химическая характеристика // Биоорганическая химия. 2023. Т. 49. С. 319–330. <https://doi.org/10.31857/S013234232303020X>
 7. Chertkova R.V., Firsov A.M., Brazhe N.A., Nikelshparg E.I., Bochkova Z.V., Bryntseva T.V., **Semenova M.A.**, Baizhumanov A.A., Kotova E.A., Kirpichnikov M.P., Maksimov G.V., Antonenko Y.N., Dolgikh D.A. Multiple mutations in the non-ordered red Ω -loop enhance the membrane-permeabilizing and peroxidase-like activity of cytochrome *c* // Biomolecules. 2022. V. 12. P. 665. <https://doi.org/10.3390/biom12050665>

**Авторы внесли равный вклад в работу*

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Отзыв **официального оппонента** д.б.н. **Топунова Алексея Федоровича**. Отзыв **положительный**, содержит следующие вопросы и замечания:

- 1) Изучение нейроглобина интересно в том числе с эволюционной точки зрения – это действительно один из самых древних глобинов позвоночных. Однако и он входит в

общее эволюционное древо глобинов, Ngb и Mb происходят от общего предка. Однако этому факту в диссертации уделено очень мало внимания.

- 2) При описании возможных функций нейроглобина стоило бы упомянуть работы группы Greenberg'a (Sun et al., 2001, 2003) по защите нейронов во время гипоксического стресса. В этих работах было показано, что при сверхэкспрессии Ngb повышается выживаемость кортикальных нейронов в случае нейрональной гипоксии.
- 3) Выводы в диссертации Семеновой М.А. сформулированы в целом четко и понятно. Однако иногда они содержат лишние слова и обороты. Например, вывод 4 начинается со слов: «На основе полученных экспериментальных данных предложен вероятный молекулярный механизм ...». Можно было бы начать прямо со слов «Предложен вероятный молекулярный механизм ...» без вступительного оборота «На основе полученных экспериментальных данных ...». Понятно, что именно на их основе был предложен данный механизм.

2. Отзыв **официального оппонента** д.х.н., профессора **Горина Дмитрия Александровича**. Отзыв *положительный*, содержит следующие вопросы и замечания:

- 1) Подтверждалось ли независимым методом, что восстановление гемового Fe^{3+} до Fe^{2+} с помощью НАДФН одновременно вызывает восстановление дисульфидной связи Cys46–Cys55? Допускается ли возможность, что здесь работают два самостоятельных редокс-процесса — восстановление гемового железа и тиолдисульфидный обмен?
- 2) Почему в рамках проверки стадии I не была исследована зависимость спектрального ответа/редокс-взаимодействия от концентрации хлорида натрия или общей ионной силы?
- 3) Для ряда измерений КР/ГКР приводится $n=5$ и U-критерий Манна–Уитни, однако из текста не всегда очевидно, что представляют собой пять повторностей: независимые наработки и очистки белка, разные серебряные подложки или повторные измерения одного образца?
- 4) Регистрация гемовых групп выполняется при использовании лазера с длиной волны 532 нм, то есть в резонансных условиях, с мощностью до 1 мВт и субмикронным пятном, то есть плотность мощности была достаточна для инициации фотохимических или локальными тепловыми эффектами. В связи с вышеизложенным вопрос: стабилен ли КР/ГКР спектр при последовательной регистрации одной и той же точки?
- 5) После подраздела 2.2.2.1 следует 2.2.2.3; подраздел 2.2.2.2 отсутствует.

3. Отзыв **ведущей организации**. Отзыв *положительный*, содержит следующие замечания и вопрос:

- 1) К замечаниям можно отнести некоторые неточности и ошибки в тексте. Например, рис.1 в работе подписан «Функциональное разнообразие гемсодержащих белков». Уместнее было бы подписать «Реакционная активность группы гема разных белков». Другой пример: рис.24 подписан как «Поверхности электростатических потенциалов ...» (но у потенциалов нет поверхностей). Подразумевалось, что изображены поверхности белков, раскрашенные согласно их электростатическим потенциалам. В тексте часто используется слово «мутация» в случаях, когда правильнее использовать выражение «аминокислотная замена».
- 2) По спектрам КД в дальней УФ области белки Ngb с заменами K67E и K95E максимально отличаются друг от друга. По данным других методов эти белки похожи как на белок дикого типа, так и между собой. Как это можно объяснить?
4. Отзыв на **автореферат** к.б.н., старшего научного сотрудника кафедры биохимии Биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, **Мурановой Лидии Константиновны**. Отзыв *положительный*, содержит следующее замечание: «К незначительным недостаткам автореферата можно отнести недостаточное количество ссылок в тексте и полное отсутствие списка литературы хоть в каком-то виде. Очевидно, что список литературы приведен в тексте диссертации, однако, автореферат – самостоятельное произведение, в связи с этим, по моему мнению, список литературы в тексте автореферата необходим читателю.»
5. Отзыв на **автореферат** к.б.н., доцента кафедры общей и медицинской биофизики МБФ Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения РФ, **Степанова Германа Олеговича**. Отзыв *положительный*, содержит следующие замечания:
 - 1) На спектрах поглощения значения указаны в «отн. ед.». Как правило (если не проводилась дополнительная обработка данных, например нормировка), оптическая плотность является безразмерной величиной.
 - 2) Из текста неясно, на чем основано утверждение: «Важно отметить, что Cyt c 8mut практически утратил функцию переносчика электронов в ЭТЦ митохондрий». Из текста непонятно, проводились ли в работе измерения электрон-транспортной цепи.
 - 3) Статистический анализ выполнен с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни, при этом столбчатые диаграммы представлены в параметрическом виде. Для непараметрического критерия уместнее представлять медианы и межквартильный размах и т.п.
 - 4) Не указаны точные значения p (приведены лишь пороговые уровни $p < 0,05$ и $p < 0,01$). Дело в том, что число повторов в работе невелико ($n = 5$), и не исключено, что, согласно анализу мощности, уже 6–8 повторов было бы достаточно для выявления статистически значимых различий. Поэтому проведение анализа мощности

повысило бы доверие к выводам об отсутствии различий в тех случаях, когда при 5 повторах различия не достигли уровня значимости.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными достижениями в области молекулярной биологии, биохимии, физико-химической биологии, которые подтверждены многочисленными публикациями в ведущих российских и международных рецензируемых научных изданиях. В ведущей организации – Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте белка Российской академии наук (Институт белка РАН) – ведутся многолетние исследования в области белковой инженерии, биохимии и биофизики белка, в том числе с применением спектральных методов анализа. Официальный оппонент Топунов Алексей Федорович является специалистом в области функциональных исследований гемсодержащих белков из семейства глобинов. Официальный оппонент Горин Дмитрий Александрович является специалистом по биофизике, в частности, в области применения спектроскопии комбинационного рассеяния и гигантского комбинационного рассеяния для анализа биомолекул, в том числе белков. Официальные оппоненты и представители ведущей организации обладают высокой квалификацией, большим опытом исследовательской и экспертной работы, что позволяет им объективно оценить теоретическую и практическую значимость, степень научной новизны результатов диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: разработана высокоэффективная схема продукции, выделения и очистки рекомбинантного нейроглобина человека; разработана новая методика для исследования редокс-взаимодействий гемсодержащих белков нейроглобина и цитохрома *c* на основе спектроскопии комбинационного рассеяния; показано, что происходит специфическая реакция переноса электрона с гема нейроглобина на гем цитохрома *c*, сопровождающаяся повышением подвижности пирролов и метильных радикалов гема цитохрома *c*, повышением вероятности плоской конформации гема цитохрома *c* и его смещением в гемовой впадине; предложен постадийный молекулярный механизм взаимодействия нейропротекторного белка нейроглобина с цитохромом *c*.

Теоретическая значимость исследования заключается в углублении знаний о механизме функционирования нейроглобина, а именно его редокс-взаимодействия с цитохромом *c*. Продемонстрировано непосредственное влияние точечных аминокислотных замен на эффективность белок-белковых взаимодействий, сопровождающихся переносом электрона. В работе успешно применены подходы спектроскопии комбинационного рассеяния, с помощью которых показана значимость конформационных перестроек гемов, происходящих при переносе электрона от нейроглобина на цитохромом *c*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики состоит в том, что разработанные методики изучения редокс-взаимодействия нейроглобина и цитохрома *c* и получения рекомбинантного нейроглобина и его мутантных форм будут использованы в дальнейших функциональных исследованиях нейроглобина, а в перспективе и других гемсодержащих белков. Понимание механизма нейропротекторной активности нейроглобина необходимо для последующих разработок биомедицинских препаратов для лечения заболеваний, ассоциированных с клеточной гибелью нейронов (например, болезнь Альцгеймера).

Оценка достоверности результатов исследования не вызывает сомнений: экспериментальные результаты получены с применением современных научных методов, на высокотехнологичном сертифицированном оборудовании (КР-микроспектрометр, спектрофотометр и др.), при этом были проведены все необходимые калибровки, воспроизводимость результатов была неоднократно продемонстрирована. Эксперименты выполнены в объеме, достаточном для получения достоверных результатов, минимальное количество измерений - 3 повторности.

Личный вклад Семеновой Марины Андреевны состоит в планировании и выполнении экспериментальной части работы с использованием методов молекулярной биологии, белковой биоинженерии, а также ряда физико-химических методов, анализе литературных и экспериментальных данных, выдвижении гипотез на их основе. Автор принимал непосредственное участие в разработке методик, интерпретации полученных результатов, написании публикаций и представлении полученных результатов на международных и всероссийских конференциях. Автором была разработана схема экспрессии, выделения и очистки рекомбинантного нейроглобина, сконструирована и получена панель мутантных нейроглобинов и цитохромов *c*, наработаны и очищены препаративные количества всех белков, использованных в исследовании. Спектры кругового дихроизма регистрировали совместно с н.с. Игнатовой А.А. в лаборатории оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул (ГНЦ ИБХ РАН). Все эксперименты с применением методов спектроскопии комбинационного и гигантского комбинационного рассеяния были проведены автором совместно с к.б.н., м.н.с. Бочковой Ж.В. и к.б.н., в.н.с. Браже Н.А., инфракрасные спектры регистрировали совместно с к.б.н., с.н.с. Паршиной Е.Ю. в лаборатории биофизики клетки кафедры биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Спектры ЯМР были зарегистрированы д.ф.-м.н., г.н.с. Бочаровым Э.В. в лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии (ГНЦ ИБХ РАН), эксперименты с использованием методов масс-спектроскопии были проведены к.х.н., с.н.с. Зиганшиным Р.Х., группа масс-спектроскопии (ГНЦ ИБХ РАН).

Диссертационный совет 24.1.037.01 заключил, что диссертационная работа Семеновой Марины Андреевны является законченной научно-квалификационной работой. Диссертация написана автором самостоятельно, содержит новые и актуальные научные результаты и по своему содержанию полностью соответствует специальности 1.5.3. – Молекулярная биология. Таким образом, диссертационная работа Семеновой Марины Андреевны «Молекулярный механизм взаимодействия нейропротекторного белка нейроглобина с цитохромом с», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – Молекулярная биология, соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденном Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 со всеми последующими изменениями Постановлений Правительства Российской Федерации.

В ходе защиты диссертации были заданы следующие вопросы:

1. Взаимодействие с цитохромом с – это единственная функция нейроглобина или у него есть еще ряд других функций?
2. Есть ли исследуемые в работе мутации в каких-то аллельных вариантах, сцеплены ли они с какими-нибудь нарушениями гомеостаза?
3. Недавно обнаружили, что нейроглобин есть у губок, у медуз и других древних животных, зачем он им нужен?

Соискатель Семенова М.А. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию:

1. Нейроглобин может связывать и запасать кислород, участвует в метаболизме азота. Он способен детоксифицировать активные формы азота и кислорода, т.е. обладает антиоксидантной функцией. Известно взаимодействие нейроглобина с альфа-субъединицей G-белка, которое способствует выживанию клеток. Считается, что нейроглобин способен блокировать выход цитохрома с из митохондрий за счет взаимодействия с митохондриальной порой. В целом, для нейроглобина известно довольно много белок-белковых взаимодействий, т.е. это белок с множеством функций, которые являются предметом активного изучения.
2. Исследуемые мутации не встречаются в популяциях. Однако согласно данным, полученным с помощью AlphaMissense (интернет-ресурс, позволяющий предсказать патогенность мутаций), мутации K67E и K95E могут быть очень патогенными.
3. Нейроглобин – это очень древний белок и считается, что у беспозвоночных животных он выполняет функцию запасаания кислорода, а функция нейропротекции была приобретена в ходе дальнейшей эволюции.

На заседании 14 октября 2026 г. диссертационный совет постановил: за решение научной задачи по исследованию молекулярного механизма взаимодействия нейтропротекторного белка нейроглобина с цитохромом *c*, имеющей важное значение для молекулярной биологии, присудить **Семеновой Марине Андреевне** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 7 докторов наук по научной специальности рассматриваемой диссертации 1.5.3. – Молекулярная биология, участвовавших в заседании, из 30 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 20, против - 0, действительных бюллетеней - 0.

Председатель
диссертационного совета

академик РАН Мирошников А.И.

Ученый секретарь
диссертационного совета

д.ф.-м.н. Олейников В.А.

14 октября 2026 г.

