

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Степаненко Олеси Викторовны
«Структурные свойства биомаркеров на основе GFP-подобных флуоресцентных белков и бактериальных фитохромов, определяющие их оптические характеристики»,
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности
1.5.3 - молекулярная биология

Диссертационная работа Степаненко О.В. посвящена выявлению структурных механизмов, определяющих фотофизические характеристики флуоресцентных белков, широко применяемых в качестве биомаркеров в молекулярно-биологических исследованиях. Объектом исследования служили GFP-подобные белки и белки на основе бактериальных фитохромов. Актуальность представленной работы не вызывает сомнения, поскольку флуоресцентное зондирование является в настоящее время ведущим методом прижизненной визуализации внутриклеточных процессов в тканях, но задача создания «идеального» флуоресцентного маркера для этих целей ещё не решена.

На основании автореферата, можно выделить три основных направления, по которым автор вёл исследование, чтобы достичь поставленной цели. Во-первых, значительная часть работы посвящена установлению механизмов, по которым белковое окружение хромофора влияет на характеристики флуоресценции. Впервые показана роль водородных связей между хромофором и ближайшими к нему аминокислотами в изменении спектральных свойств зеленого флуоресцентного белка sfGFP. Впервые предложена схема взаимодействия димерных бактериальных фитохромов с их природным хромофором биливердином IXa. Выявлено, что спектральные свойства этих биомаркеров зависят от локализации цистеиновых остатков в PAS и GAF доменах белковой матрицы.

Во-вторых, детально исследовано, как изменение состава среды, окружающей флуоресцентный белок, (эффект макромолекулярного краудинга, концентрация ионов и денатурирующего агента) опосредовано влияет на спектральные характеристики связанного хромофора зеленого флуоресцентного белка sfGFP и ближне-инфракрасного флуоресцентного белка iRFP713, что определяет возможность их использования как *in vivo* (в неоднородных условиях клеток и тканей организмов), так и в модельных экспериментах *in vitro*. При этом, показано, что в условиях макромолекулярного краудинга на процесс фолдинга исследованных белков оказывает влияние не только величина исключенного объема, но и изменение свойств воды.

В-третьих, выполнена работа по конструированию биомаркера с улучшенными спектральными характеристиками путем замены природного хромофора бактериальных фитохромов биливердина на фикоцианобилин.

В целом, результаты этого масштабного и в то же время очень скрупулёзного исследования позволили сформировать целостное представление о механизмах, регулирующих спектральные (положение максимума спектров поглощения и флуоресценции, ширина полос поглощения и флуоресценции, квантовый выход, молекулярная яркость) и физико-химические (стабильность, фолдинг) свойства флуоресцентных биомаркеров на основе GFP-подобных флуоресцентных белков и

бактериальных фитохромов. Другими словами, поставленная цель исследования была достигнута.

Хочется отметить, что текст автореферата написан хорошим языком, логика изложения делает понятными многие довольно сложные экспериментальные результаты. Цель и задачи исследования четко сформулированы, выводы соответствуют поставленным задачам.

Таким образом, к тексту автореферата и содержанию исследования замечаний нет.

Видно, что результаты работы прошли многократную апробацию на российских и международных конференциях, отражены в достаточном количестве публикаций в ведущих научных журналах.

В целом, диссертация О.В. Степаненко представляется значимой для развития новой перспективной тематики исследований, решение поставленных в работе задач принципиально важно для развития области знаний в целом, при этом продемонстрировано формирование принципиально новых подходов к решению поставленных задач, соответствующих передовым разработкам в молекулярной биологии.

Считаем, что диссертация О.В. Степаненко как по объему выполненной работы, так и по новизне и значимости полученных результатов, представляет собой завершенное научное исследование и соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней». Ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 - молекулярная биология.

Зав. кафедрой биофизики
Института фундаментальной биологии
и биотехнологии,
зав. лабораторией
биоллюминесцентных биотехнологий,
д.б.н. по специальности 03.01.02 – биофизика,
профессор

В.А. Кратасюк

Н.с. лаборатории
биоллюминесцентных биотехнологий,
к.ф.-м.н. по специальности 03.01.02 – биофизика,
доцент

Е.В. Немцева

Адрес: ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет,
660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79
Тел./факс: (391) 2062307/ (391) 2062165
E-mail: vkratasyuk@sfu-kras.ru, enemtseva@sfu-kras.ru



ФГАОУ ВО СФУ
И.с. заверяю
Начальник общего отдела
29 12 2024 г.