

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации РУМЯНЦЕВА Константина Алексеевича на тему: «БЛИЖНЕИНФРАКРАСНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ И БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ БИОМАРКЕРЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФИТОХРОМОВ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология

Диссертационная работа РУМЯНЦЕВА К.А, Г.С. посвящена созданию новых белковых конструкторов, состоящих из модифицированной люциферазы *Renillareniformis* (RLuc8) и бактериальных белков (iRFP670 и iRFP720), которые в комплексе с биливердином или его аналогом фикоцианобилином способны флуоресцировать в ближней инфракрасной области (соответственно, iRFP670 и iRFP720). Автором выполнен огромный объем работы по получению химерных белков с различным N- и C-концевым расположением люциферазы и iRFP, различной длиной спейсеров между ними, осуществлена замена серина-110 на цистеин, обеспечившая ковалентное связывание белков с хромофорными группами. Диссертант доказал, что получены однодоменные белки минимального размера, определил спектры возбуждения и испускания флуоресценции химерных белков, установил рН-зависимость интенсивности флуоресценции. Была получена экспрессия конструкторов в клетках HeLa, позволившая выбрать оптимальный варианты C-концевого расположения RLuc8 и дипептид в качестве спейсера. Этот результат уже вполне соответствует по объему и значимости работы уровню добротной кандидатской диссертации, тем более, что опубликован в журнале с импакт-фактором выше 5. Однако Константин Алексеевич, ведомый высокими требованиями, традиционными в коллективах профессоров К.К. Туроверова и В.В. Верхуши, продолжил исследования на животных. Следует отметить, что сначала были тщательно подобраны условия «заражения» на «фантомах» мышей, сэкономившие многие жизни животным и, очевидно, средства, и только затем раковые клетки, экспрессировавшие оптимальные для анализа люминесцентно-флуоресцентные химерные белки, были введены в молочные железы или внутривенно. Получены весьма обнадеживающие результаты о том, что ближнеинфракрасная флуоресценция, возникающая благодаря переносу энергии возбуждения с люциферазы на флуоресцентный белок, позволяет обнаруживать раковые клетки на глубине более 1 см, причем в количестве на порядок меньшем того, которое было ранее доступно с помощью оптической томографии. Более того, результаты, которые в автореферате отмечены скорее как недостаток, а именно, довольно сильная рН-зависимость сигнала вблизи физиологических значений рН (Рис. 3А), могут дать полезную информацию о метаболизме клеток, экспрессирующих полученные люминесцентно-флуоресцентные конструкторы, и изменениях

метаболизма (ионного гомеостаза) при терапевтических воздействия направленных на ликвидацию раковых клеток, когда размеры опухоли еще не изменились.


В целом диссертация представляет собой завершённое научное исследование, вносящее существенный вклад в изучение структуры флуоресцентных белков и перспективу их медико-биологического применения. Выводы, сделанные автором, подкреплены обширным экспериментальным материалом. По результатам работы опубликованы 4 статьи в рецензируемых зарубежных и отечественных журналах и сделаны 6 докладов на международных и отечественных конференциях. Работа К.А.Румянцева полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а диссертант заслуживает присвоения ему степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология.

И. о. зав. лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Министерства Здравоохранения РФ,

д.б.н., главный научный сотрудник

Адрес: Россия, 119991 Москва,
Ломоносовский пр-т, 2(стр.1)
Тел: (499)134-14-45
e-mail: surin_am@mail.ru

Сурин А.М.

 12.05.2017

Подпись Сурина А.М. заверяю:

Ученый секретарь ФГАУ «ННПЦЗД» Минздрава России,
кандидат медицинских наук





Сурков А.Н.