

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.039.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИБХФ РАН) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15.10.2014 г., протокол № 5
О присуждении Лисицыной Екатерине Сергеевне, гражданке Российской
Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Образование комплексов красителей с ДНК и их
взаимодействие с наночастицами золота» в виде рукописи
по специальности 02.00.04 – физическая химия
принята к защите 02.07.2014 (протокол № 4) диссертационным советом Д
002.039.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук,
119334, Москва, улица Косыгина, 4, приказом Министерства образования и науки
105/НК от 11.04.2012.

Соискатель – Лисицына Екатерина Сергеевна 1985 года рождения в 2008
году окончила Московскую государственную академию тонкой химической
технологии им. М.В. Ломоносова. С 10.12.2008 г. по 10.12.2011 г. обучалась в очной
аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по
специальности 02.00.04 – физическая химия. В настоящее время работает младшим
научным сотрудником в лаборатории физико-химических основ рецепции
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории процессов фотосенсибилизации
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Научный руководитель - доктор химических наук, профессор **Кузьмин
Владимир Александрович**, заведующий лабораторией процессов

фотосенсибилизации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1. **Ванников Анатолий Вениаминович**, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией электронных и фотонных процессов в полимерных материалах Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук;
 2. **Гришин Максим Вячеславович**, доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химической физики наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук
- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики Российской академии наук, г. Черноголовка, Московская область, в своем положительном заключении, подписанном Бричкиным Сергеем Борисовичем, доктором химических наук, заведующим отделом нанофотоники, отмечает актуальность и научную новизну работы, достоверность экспериментальных результатов. Отмечено логичное изложение материала и обоснованность выводов, а также отсутствие заимствованных материалов и результатов без ссылок на авторов и источник заимствования. Подтверждается соответствие автореферата содержанию диссертационной работы и соответствие работы паспорту специальности. В заключении констатируется, что диссертация Лисицыной Е.С. является завершенной научно-исследовательской работой, имеющей существенное научное и практическое значение для современной физической химии. Диссертация соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, из них по теме диссертации – 10 работ общим объемом 1 печатный лист, работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 4, в том числе в российских рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК - 2, в зарубежных рецензируемых научных изданиях - 2.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Kuzmin, M.G. Microphase Mechanism of "Superquenching" of Luminescent Probes in Aqueous Solutions of DNA and Some Other Polyelectrolytes / M. G. Kuzmin, I. V. Soboleva, N. A. Durandin, E. S. Lisitsyna, V. A. Kuzmin // J. Phys. Chem. B. – 2014. – V. 118. – Issue 15. – P. 4245–4252;
2. Лисицына, Е. С. Самогашение флуоресценции красителя SYBRGreen в комплексе с ДНК и в молекулярно организованных системах ДНК / Е. С. Лисицына, Н. А. Дурандин, Д. Н. Калюжный, В. А. Кузьмин // Химия высоких энергий. – 2013. – Т. 47. – Вып. 1. – С. 39–43;
3. Лисицына, Е. С. Супертушение флуоресценции красителя SYBRGreen в комплексе с ДНК под действием наночастиц золота / Е. С. Лисицына, О. Н. Лыго, Н. А. Дурандин, О. В. Дементьева, В. М. Рудой, В. А. Кузьмин // Химия высоких энергий. – 2012. – Т. 46. – Вып. 6. – С. 458–463.

На автореферат поступило **4 положительных отзыва**: 1) отзыв, подписанный **к.х.н. Лобановым А.В.**, старшим научным сотрудником, заместителем заведующего лабораторией фотобионики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, содержащий следующие замечания рекомендательного характера: 1. хотелось бы видеть в работе измеренные квантовые выходы синглетного кислорода или иных активных форм кислорода (АФК), генерируемых исследованными тетрафенилпорфиринами в комплексе с ДНК и в растворителе, поскольку именно АФК являются основным повреждающим фактором при фотодинамической терапии, для которой предполагается использовать исследуемые порфирины; 2. модель, предложенная Лисицыной Е.С. для описания взаимодействия в тройной системе краситель/ДНК/наночастицы золота, подразумевает высокое сродство наночастиц золота к ДНК, однако данные о силе взаимодействия исследуемых наночастиц с ДНК в работе отсутствуют, следовательно, можно порекомендовать автору в дальнейшем провести дополнительные исследования в этой области для дополнительного подтверждения

предложенной модели; 2) отзыв, подписанный д.х.н., проф. **Плюсниным В.Ф.**, заведующим лабораторией фотохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского Сибирского отделения Российской академии наук, без замечаний; 3) отзыв, подписанный д.ф.-м.н. **Олейниковым В.А.**, заведующим лабораторией молекулярной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, без замечаний; 4) отзыв, подписанный д.х.н. **Ивановым В.Л.**, ведущим научным сотрудником кафедры химической кинетики химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, без замечаний.

В отзывах отмечается высокий уровень выполнения диссертационной работы, ее актуальность, новизна, а также научная и практическая значимость полученных результатов, обоснованность выводов. Работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они проводят активные исследования и являются ведущими специалистами в областях науки, к которым относится диссертационное исследование, а также имеют достаточное количество соответствующих публикаций. Так, в Институте проблем химической физики Российской академии наук под руководством д.х.н. Бричкина С.Б. ведутся исследования в области спектроскопии и фотохимии цианиновых и других красителей, а также наночастиц металлов и, в частности, наночастиц золота. Д.х.н. Ванников А.В. является специалистом в области синтеза и изучения физико-химических свойств наночастиц металлов, а также создания полимерных композитов на основе агрегатов цианиновых красителей. В круг научных интересов д.ф.-м.н. Гришина М.В. входит изучение физико-химических свойств наноразмерных металлооксидов. Их высокая квалификация позволяет объективно определить научную и практическую ценность диссертационного исследования.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований

доказано, что:

- новые синтезированные катионные тетрафенилпорфирины образуют с ДНК два типа комплексов: интеркаляционный (прочный) и комплекс залегания в малой бороздке ДНК (слабый);
- тип образующегося комплекса ТФП с ДНК зависит от структуры порфирина: по мере увеличения длины метиленовых спейсеров, отделяющих пиридиновые группы от макроцикла, и при введении металла (Zn) в структуру порфирина уменьшается доля прочного интеркаляционного комплекса и начинает преобладать менее прочный комплекс залегания в малой бороздке ДНК, при этом эффективная константа комплексообразования ТФП с ДНК уменьшается;
- цианиновый краситель SYBRGreen образует с ДНК два типа комплексов: интеркаляционный и внешний с формированием ассоциата красителя;
- в присутствии конденсированных форм ДНК происходит самотушение флуоресценции красителя SYBRGreen, в качестве механизма которого подтвержден ферстеровский перенос энергии от мономера красителя на его ассоциат;
- наночастицы золота эффективно тушат флуоресценцию интеркалированного в ДНК красителя SYBRGreen (эффект «супертушения» флуоресценции);
- в присутствии красителя SYBRGreen образуются агрегаты из нескольких наночастиц золота;
- процесс взаимодействия наночастиц с красителем в тройной системе протекает в диффузионном режиме;

предложены:

- модель взаимодействия интеркалированного в ДНК красителя SYBRGreen и наночастиц золота размером $\sim 2,5$ нм, объясняющая обнаруженный впервые эффект «супертушения» флуоресценции цианинового красителя SYBRGreen наночастицами золота, обусловленный статическим тушением с образованием комплекса из трех частиц золота и молекулы цианинового красителя;
- новый подход к объяснению взаимодействия наночастиц с красителем в системе краситель SYBRGreen/ДНК/наночастицы золота с точки зрения микрофазной модели (в качестве микрофазы рассматриваются молекулы ДНК) в дополнение к

классической гомогенной модели.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, значительно расширяющие понимание процессов комплексообразования красителей с ДНК и наночастицами золота: установлено влияние структуры ТФП на тип и прочность его комплекса с ДНК, показана возможность образования ассоциатов красителя SYBRGreen в малой бороздке ДНК, что обуславливает самотушение красителя в комплексе с биополимером, подтверждено образование комплекса красителя SYBRGreen, интеркалированного в ДНК, с тремя наночастицами золота;

применительно к проблематике диссертации эффективно использованы базовые физико-химические методы, такие как спектроскопия поглощения и флуоресценции, а также структурный метод кругового дихроизма и высокочувствительный метод однофотонного счета для определения времен жизни флуоресценции;

изучены процессы комплексообразования катионных ТФП с ДНК; процессы самотушения красителя SYBRGreen в присутствии ДНК с различной степенью конденсации; процесс «супертушения» флуоресценции цианинового красителя SYBRGreen, интеркалированного в ДНК, наночастицами золота размером $\sim 2,5$ нм;

доказано наличие вклада электростатической компоненты при взаимодействии SYBRGreen с наночастицами в присутствии ДНК и кооперативный характер данного взаимодействия, который впервые объясняет явление «супертушения» флуоресценции небольших мономерных флуорофоров наночастицами золота, природа которого до настоящего времени была малоизученной;

были рассмотрены различные математические модели для описания взаимодействия наночастиц золота с красителем SYBRGreen в тройной системе краситель/ДНК/наночастицы золота, в результате была предложена модель, наиболее адекватно описывающая происходящие процессы;

раскрыта возможность применения микрофазной модели для объяснения взаимодействия наночастиц с красителем в тройной системе краситель/ДНК/наночастицы золота, что представляет несомненный интерес для интерпретации последующих работ по флуоресценции аналогичных систем.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем что:

полученные данные по комплексообразованию ТФП и цианинового красителя SYBRGreen с ДНК **могут быть использованы** для создания критериев выбора наиболее перспективных фотосенсибилизаторов или флуоресцентных зондов; **выявлены** концентрационные ограничения использования красителя SYBRGreen в экспериментах с ДНК в конденсированном состоянии, в связи с непропорциональным изменением флуоресцентных характеристик красителя при высоких концентрациях красителя, обусловленным самотушением красителя; с другой стороны обнаруженное самотушение красителя SYBRGreen в конденсированных системах открывает новую область применения данного красителя в качестве детектора конденсации-деконденсации биополимера ДНК; **получены** новые представления о комплексообразовании красителя SYBRGreen и наночастиц золота, открывающие возможность создания сенсорных систем, включающих исследованную пару в качестве флуорофора и тушителя, а также подбора наиболее перспективных пар флуоресцентных красителей и тушителей для подобных систем.

Оценка достоверности результатов исследования выявила высокую точность и надежность представленных в диссертации результатов, что обусловлено использованием апробированных, высокочувствительных методов исследования, а также согласованностью данных, полученных различными методами. Дополнительным подтверждением достоверности результатов является проведенное сравнение авторских данных и установление их качественного соответствия экспериментальным данным, опубликованным в данной тематике ранее, и данным, опубликованным в смежных тематиках.

Личный вклад соискателя состоит в проведении исследований, обработке и анализе полученных данных, формулировании положений и выводов, а также подготовке статей к опубликованию. Все изложенные в диссертации новые результаты получены автором лично или при непосредственном ее участии в подготовке и проведении экспериментов. Результаты работы неоднократно были представлены соискателем на международных и российских конференциях.

Диссертация Лисицыной Е.С. «Образование комплексов красителей с ДНК и

их взаимодействие с наночастицами золота» представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу, удовлетворяющую всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям и требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, в которой содержится решение задачи определения физико-химических параметров комплексообразования красителей с ДНК, а также природы взаимодействий в тройных системах «краситель/ДНК/наночастицы золота», что имеет фундаментальное значение для развития соответствующей области знаний и может стать основой для практического использования объектов исследования.

На заседании 15 октября 2014 года диссертационный совет принял решение присудить Лисицыной Е.С. ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 8 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Заместитель председателя
диссертационного совета, д.х.н.



Трофимов А.В.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.х.н.

Мазалецкая Л.И.

15.10.2014 г.