

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Лисицыной Екатерины Сергеевны «Образование комплексов красителей с ДНК и их взаимодействие с наночастицами золота», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия

Работа Лисицыной Екатерины Сергеевны посвящена исследованию комплексообразования красителей с молекулами ДНК, а также взаимодействию наночастиц с такими комплексами. Результаты исследования фотохимических процессов с участием молекул красителей и родственных гетероциклических соединений, а также наночастиц благородных металлов представляют интерес, как для фундаментальной науки, так и для практического использования при разработке новых фотохимических аналитических методов в биохимии и медицине.

Определение условий и параметров взаимодействия тетрафенилпорфиринов (ТФП) с ДНК на молекулярном уровне важно для отбора наиболее перспективных порфиринов в качестве фотосенсибилизаторов для дальнейших фотодинамических исследований. Цианиновые красители широко применяются в качестве флуоресцентных зондов для детекции ДНК и определения ее концентрации в биологических объектах, благодаря их исключительным оптическим свойствам, сопровождающим комплексообразование с ДНК. Но даже для широко применяемых цианиновых красителей, таких как SYBRGreen (SG), и их комплексов с ДНК фотохимия и фотофизика остается малоизученной. Бурно развивающейся областью науки в последние несколько лет является изучение наноразмерных частиц металлов, например золота, для установления их физико-химических свойств. В качестве одного из ярких применений наноразмерного золота можно отметить создание биосенсорных систем, которые содержат флуоресцирующий краситель и наночастицу золота, осуществляющую тушение флуоресценции.

Таким образом, работа Лисицыной Екатерины Сергеевны является актуальной и отвечает сразу на несколько вопросов фундаментальной науки.

В ходе работы методом спектрофотометрии установлено, что новые производные ТФП являются ДНК-лигандами, определены константы комплексообразования с ДНК. Методами кругового дихроизма и однофотонного счета показано образование двух типов комплексов исследованных катионных ТФП с ДНК, и установлена зависимость типа образующегося комплекса и константы комплексообразования от объема заместителей и наличия металла в координационной сфере порфирина.

В работе впервые показан эффект самотушения флуоресценции цианинового красителя SG в комплексе с конденсированной формой ДНК в виде жидкокристаллических дисперсий. В качестве механизма самотушения красителя

предложен процесс переноса энергии с мономерной флуоресцирующей формы красителя, интеркалированной между парами оснований ДНК, на нефлуоресцирующий димер, образующийся в малой бороздке ДНК. Образование ассоциатов красителя SG на ДНК доказано методами спектрофотометрии и кругового дихроизма.

В работе применяются основные современные модели для объяснения эффекта «супертушения» флуоресценции красителя SG наночастицами золота диаметром 2,5 нм на матрице ДНК. В качестве новизны можно отметить то, что для описания процесса «супертушения», который был ранее известен в литературе для других флуорофоров, но не объяснен, впервые предложено использовать модель кооперативного связывания. Данная модель адекватно описывает полученные данные и согласуется с результатами спектрофотометрического исследования данной системы.

Можно заключить, что Лисицына Екатерина Сергеевна успешно справилась с поставленными перед ней задачами по определению физико-химических параметров комплексообразования ТФП с молекулами ДНК, процессов самотушения красителя SYBRGreen и его «супертушения» наночастицами золота на матрице ДНК. В процессе работы диссертант уверенно овладела основными практическими навыками и методами исследования, такими как спектрофотометрический и спектрофлуориметрический методы, анизотропия флуоресценции, метод кругового дихроизма и метод однофотонного счета, а также различными методиками анализа данных.

В диссертационной работе следует отметить следующие недостатки, не затрагивающие, впрочем, сущность выполненного исследования.

1. Неверно сформулированы цель и задачи работы. Вместо слов «изучить», «исследовать» и т.п. следовало бы написать «установить взаимосвязь...», «определить значение...» и т.д.

2. На стр.34 имеется утверждение "При связывании НЧ с биомолекулярной структурой важную роль играет поверхность частицы, так как на ее поверхности располагаются электрические заряды." Откуда на поверхности НЧ могут взяться такие заряды? Каковы доказательства существования заряда?

3. Почему экспериментальная зависимость (точки) на Рис.3.4 аппроксимируется прямой, а не зависимостями иного рода (например, логарифмической или экспонентой)?

4. В работе рассматриваются фотохимические процессы с участием наночастиц. Имеются ли доказательства взаимодействия наночастиц и ДНК в организме *in vivo*?

5. Большое число замечаний, связанных с оформлением работы. Например, не расшифрованы или расшифрованы позже введения в текст некоторые используемые обозначения: hetero-FRET, homo-FRET, DAPI, CC-1065, спектры КД и ЛД. На некоторых рисунках отсутствует обозначение осей и единиц измерения, нет их в подписи (см. Рис. 1.8, 1.12, 1.13, 3.2, 4.1 и др.). Рисунки 3.16 - 3.18 не читаемы, обозначения разноцветных

кривых отсутствуют. На стр.12, 13, 18, 19, 20, 41, 42, 84 приведены структурные формулы химических соединений, которые не выделены в качестве рисунков.

Однако отмеченные недостатки не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Основные результаты опубликованы в российских и международных изданиях и неоднократно докладывались и обсуждались на научных конференциях.

Диссертация Лисицыной Е.С. соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, и является научно-квалификационной работой, содержащей решение задачи определения физико-химических параметров комплексообразования красителей с ДНК, а также исследования природы взаимодействий в тройных системах краситель/ДНК/НЧ золота, что имеет фундаментальное значение для развития соответствующей области знаний и может стать основой для практического использования объектов исследования. Считаю, что автор диссертации Лисицына Екатерина Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

«24» сентября 2014 года

доктор физико-математических наук

Гришин Максим Вячеславович

Ведущий научный сотрудник
лаборатории химической физики наноструктур
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт химической физики им. Н.Н. Семенова
Российской академии наук
119991, Москва, ул. Косыгина, 4
тел.: (495)9397424
e-mail: grishin@chph.ras.ru



Собственноручную подпись
сотрудника М.В. Гришина
удостоверяю
Секретарь С.А.С.