

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертации Е.С. Лисицыной «Образование комплексов красителей с ДНК и их взаимодействие с наночастицами золота», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия

Диссертационная работа Е.С. Лисицыной связана с исследованием спектрально-кинетических характеристик комплексов красителей различных классов с молекулами ДНК. Актуальность проведенного исследования определяется широким использованием низкомолекулярных органических веществ в лечебной терапии, а также совместно с ДНК в качестве ДНК-специфичных молекулярных зондов. Актуальность работы определяется также востребованностью новых наносистем для проведения фотодинамической терапии. В качестве красителей в работе были выбраны соединения двух классов тетрафенилпорфирин (ТФП), содержащий различное число групп $-CH_2-$ в спейсерах, отделяющих пиридиновую группу от макроцикла, и катионный цианиновый краситель. Кроме того, в работе использовались наночастицы золота, образующие вместе с ДНК и красителем тройную систему. Использование спектрофотометрических и флуоресцентных методов при исследовании названных комплексов позволило получить в работе достоверные результаты по механизму взаимодействия красителей и наночастиц золота с ДНК.

Литературный обзор в диссертации достаточно полно освещает современное состояние исследований по комплексообразованию красителей с биомакромолекулами и фотохимическим и фотобиологическим процессам, протекающим в этих системах. При этом основное внимание уделяется тетрафенилпорфиринам и цианиновым красителям, именно тем объектам, которым посвящена рецензируемая работа и которые образуют комплексы с ДНК. Также рассмотрены работы, в которых используются наночастицы золота, их физико-химические свойства и применения в биологических исследованиях.

Следует отметить следующие наиболее интересные результаты работы. Показано, что при переходе от ТФП со спейсерами из пяти CH_2 -звеньев к ТФП со спейсерами из десяти CH_2 -звеньев резко уменьшается константа

комплексообразования ТФП с ДНК за счет увеличения стерических препятствий. Введение в молекулу ТФП двухзарядного катиона Zn вызывает еще большее уменьшение констант, что связывается с деформацией молекулы порфирина и невозможностью образовать водородные связи между ТФП и ДНК из-за отсутствия атомов водорода в молекуле ТФП, содержащей Zn. Это дало возможность установить два сорта комплексов ТФП с ДНК – в результате интеркаляции ТФП между парами оснований ДНК и залегания ТФП в малой бороздке ДНК.

В работе подробно рассмотрена система ДНК-цианиновый краситель, интересная тем, что она обладает высоким квантовым выходом флуоресценции по сравнению с флуоресценцией одного красителя в водном растворе, что обусловлено образованием жестких интеркаляционных комплексов красителя с молекулами ДНК. При изучении данной системы была обнаружена способность исследуемого красителя SYBRGreen к самотушению в присутствии конденсированных форм ДНК, и был доказан ферстеровский механизм переноса энергии в комплексах краситель–ДНК.

Интересным наблюдением является обнаруженный эффект тушения флуоресценции цианинового красителя наночастицами золота. Для объяснения этого эффекта была изучена флуоресценция двух красителей – флуоресцеина и родамина 6Ж, имеющих сходную структуру, но различающихся зарядами на молекуле, в присутствии наночастиц золота. Было показано, что при взаимодействии наночастиц золота с положительно заряженной молекулой родамина 6Ж наблюдается эффективное тушение флуоресценции, при этом отрицательно заряженные молекулы флуоресцеина тушатся гораздо менее эффективно. Эффект объясняется тем, что константа комплексообразования частиц золота с молекулами родамина 6Ж почти на два порядка превышает такую константу комплексообразования для флуоресцеина. Поскольку частицы золота имеют значительный отрицательный заряд, можно сделать вывод, как это показано в диссертации, о значительном влиянии электростатической составляющей на эффективность комплексообразования в этой системе. Интересные результаты получены в диссертации при исследовании так называемого супертушения флуоресценции системы цианиновый краситель в растворе двухцепочечной ДНК. Чрезвычайно малые концентрации наночастиц золота вызывают значительные

понижения флуоресценции красителя. Рассмотрение всех результатов по флуоресценции красителя в растворе ДНК позволило сделать вывод, что за флуоресценцию ответственен комплекс трех частиц золота с молекулой цианинового красителя. Дальнейшее развитие этих представлений привело к выводу, что молекулы ДНК находятся в микрофазе, что приводит к существенному увеличению их концентрации и, соответственно, к уменьшению константы комплексообразования на несколько порядков. Высокое сродство наночастиц золота к молекулам ДНК также приводит к концентрированию наночастиц в микрофазе, что облегчает взаимодействие с молекулами красителя в среде биомакромолекулы. Этот результат является нетривиальным и представляет несомненный интерес для интерпретации последующих работ по флуоресценции аналогичных систем.

Кроме перечисленных получены и другие результаты, представляющие значительный теоретический и практический интерес.

Замечания по диссертации Лисицыной Е.С.

1. Во-первых, в работе не учитывается возможность образования агрегатов замещенных металлопорфиринов. Образование агрегатов сильно влияет на спектральные характеристики и фотохимические характеристики объектов.

2. Во-вторых, рассматриваются объекты, содержащие в качестве металлического иона цинк. Однако известно, что природа металла оказывает значительное влияние на природу электронных переходов, возбуждаемых в аналогичных системах светом. Следовало бы рассмотреть фотопроцессы при изменении вводимого в молекулу порфирина металла.

3. На странице 47 диссертации поглощение при 220-240 нм названо полосой Соре, что не совсем справедливо. Как известно, полоса Соре находится на границе видимого и УФ диапазонов.

4. Вызывает вопрос обоснование перехода от уравнения Перрена к модели Скетчарда. Е.С. Лисицына пишет: «Аппроксимация данных в полулогарифмических координатах Перрена должна представлять собой прямую линию, выходящую из 1, что не соблюдается: кривые имеют нелинейный вид (рис.

5.4, А и Б)». Между тем на названных рисунках прямая линия выходит из 1, а кривые имеют как раз линейный вид.

Эти замечания скорее являются пожеланиями для дальнейшего развития работы и не оказывают существенного влияния на высокий уровень представленной диссертации.

В целом, диссертационная работа Е.С. Лисицыной представляет законченное научное исследование, вносящее существенный вклад в понимание фотохимических процессов, происходящих в сложных системах ДНК-краситель и наночастицы золота. Работа выполнена на высоком экспериментальном и теоретическом уровне. Результаты опубликованы в ведущих отечественных и зарубежном журналах. По мнению оппонента, диссертационное исследование Е.С. Лисицыной полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, и его автор Е.С. Лисицына несомненно заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия.

«10» сентября 2014 года

Доктор химических наук, профессор,

заведующий лабораторией электронных и фотонных процессов

в полимерных наноматериалах

ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии

им. А.Н. Фрумкина РАН»

 Анатолий Вениаминович Ванников

Подпись А.В. Ванникова заверяю

Ученый секретарь Института

Канд. хим. наук



 И.Г. Варшавская

Почтовый адрес: 119071, Москва, Ленинский проспект, 31, корп. 4

Телефон: 8(495) 952-24-28

E-mail: van@elchem.ac.ru