

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Соловьева И.Д. на тему «Получение мономерной формы флуоресцентного белка SAASoti и применение его в методах субдифракционной и флуоресцентной корреляционной микроскопии», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – Биохимия

Актуальной задачей биохимии является получение новых мутантных форм флуоресцентных белков, имеющих улучшенные характеристики яркости и фотостабильности и способных быстрее и эффективнее претерпевать фотопревращения для применения в различных методах флуоресцентной микроскопии. Одними из подходов, позволяющих решить данную проблему, является анализ и модификация интерфейсов взаимодействия внутри тетрамера флуоресцентных белков методами генной инженерии, а также оценка скоростей необратимой фотоконверсии и обратимого фотопереключения и сравнение с известными флуоресцентными белками.

Диссертация Соловьева И.Д. посвящена получению мономерной формы флуоресцентного белка SAASoti и характеристике его физико-химических свойств для последующего применения в качестве уникального инструмента в методах супер-разрешающей флуоресцентной микроскопии. Выбор объекта исследования абсолютно обоснован. Как известно, флуоресцентный белок SAASoti впервые выделен сотрудниками лаборатории физической биохимии Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН из коралла *Stylocoeniella armata*. По скорости фотоконверсии SAASoti превосходит некоторые известные фото-конвертируемые флуоресцентные белки, что делает его конкурентоспособным для применения в методах субдифракционной микроскопии. Главным препятствием на этом пути является то, что дикий тип белка SAASoti существует в виде тетрамеров, склонных к образованию агрегатов большей молекулярной массы, что затрудняет его использование в качестве флуоресцентной метки. Более того, сам флуорофор SAASoti не вписывается в общепринятые положения о возможных механизмах фотопревращений и поэтому требует отдельного изучения.

В результате выполнения работы Соловьеву И.Д. путем введения единичной замены V127T удалось разрушить взаимодействия в гидрофобном интерфейсе и получить мономерную форму SAASoti. Автором полноценно охарактеризована фотоконверсия флуоресцентных белков SAASoti и Dendra2 и показано, что SAASoti превосходит Dendra2 по скорости образования красной формы. Данный факт особенно важен в терминах уменьшения времени набора сигнала для супер-разрешающей микроскопии. Илья

Дмитриевич впервые установил, что SAASoti является бифотохромным белком, и далее успешно определил физико-химические и кинетические параметры процессов фотопереключения и релаксации.

Таким образом, полученные Соловьевым И.Д. данные представляют собой научную и практическую ценность для различных разделов биохимии и демонстрируют возможность использования SAASoti в качестве флуоресцентной метки для метода субдифракционной флуоресцентной микроскопии PALM, а также в качестве донора флуоресценции и позволяющий одновременно изучать ферментативную активность каспазы-3 и изменения вязкости методом флуоресцентной корреляционной спектроскопии. Работа выполнена на высоком методическом уровне, а результаты работы достаточно полно изложены в автореферате и 4 статьях, две из которых опубликованы в журналах с импакт-фактором больше 4.

Резюмируя, можно утверждать, что описание достигнутых результатов в диссертации видится оригинальным и самостоятельным. Научно значимые результаты опубликованы в известных научных изданиях, при этом все представленные публикации полностью соответствуют тематике. Данные, полученные в процессе выполнения работы, были представлены на крупных российских и международных научных мероприятиях. Работа Соловьева И.Д. «Получение мономерной формы флуоресцентного белка SAASoti и применение его в методах субдифракционной и флуоресцентной корреляционной микроскопии» выполнена на высоком методическом уровне и однозначно является законченным исследованием, соответствующим требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова к работам, представленным на соискание ученой степени кандидата химических наук, а соискатель безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Заведующий лабораторией белков гормональной регуляции
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук (ИБХ РАН), г.н.с., д.х.н.

Белогуров Алексей Анатольевич

Телефон: +7(495)7273860

Email: belogurov@ibch.ru

29 ноября 2019

личную подпись: 
УДОСТОВЕРЯЮ
СПЕЦИАЛИСТ ОТДЕЛА
КАДРОВ ИБХ РАН
КОРНЕЕВА А.Б.
29.11.2019
