

О Т З Ы В

на автореферат диссертации Крашенининой Ольги Алексеевны

«Новые пиренильные эксимер-образующие зонды на основе олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) для флуоресцентной детекции РНК», представленной на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия

Синтез модифицированных олигонуклеотидов является актуальной задачей как для создания инструментов для фундаментальной науки, так и для решения задач молекулярной диагностики и терапии нового поколения. Настоящая диссертационная работа посвящена направленному введению пиренильных производных в состав олигонуклеотидов и применению полученных производных для детекции РНК в растворе и в фиксированных эукариотических клетках.

Работа представляет собой логично построенное и успешно выполненное исследование, основными этапами которого являются: синтез пиренильных производных 2'-О-метильных олигонуклеотидов, изучение их физико-химических свойств и их применение для визуализации РНК в фиксированных эукариотических клетках (FISH). Представленная научно-квалификационная работа является актуальным научным исследованием, выполненным на высоком теоретическом и методическом уровне. Планирование работы проведено грамотно, все необходимые предпосылки аргументировано объясняются. В ходе выполнения работы О.А.Крашенинина эффективно применила широкий спектр современных инструментальных методов биорганической химии и молекулярной биологии. Полученные данные могут быть полезны при синтезе новых производных олигонуклеотидов для применения в молекулярной диагностике.

Вместе с тем, имеется ряд замечаний:

На стр. 7 приводятся объяснения, что при образовании дуплексов 2'-биспиренильных 2'-ОМе олигонуклеотидов с ДНК происходит интеркаляция остатка пирена, в то время как в дуплексе с РНК из-за стерических затруднений происходит частичное нарушение водородных связей. Так как в обоих случаях наиболее вероятным является образование А-формы дуплекса, то приведенные соображения не объясняют полученных эффектов. Кроме того, одновременное интеркалирование двух остатков пирена невозможно по стерическим причинам, а согласно данным, приведенным на рис. 1 именно гибридизация вызывает стабилизацию пиреновой пары. Поэтому, учитывая использование 2'-ОМе олигонуклеотидов и присоединение производных пиренов к 2'-положению углеводного фрагмента, наиболее вероятным фактором стабилизации пиреновой пары является связывание остатка пирена с малой бороздкой дуплекса, а не интеркаляция.

Не очень понятна необходимость введения инвертированного остатка тимидина на 3'-конец 2'-биспиренильных 2'-ОМе олигонуклеотидов, учитывая, что для них не проводилось экспериментов ни на клеточных культурах, ни на животных.

Полученные константы ассоциации для 2'-биспиренильных 2'-ОМе олигонуклеотидов стоило сравнить с данными для 2'-ОМе олигонуклеотидов, иначе приведенные значения не позволяют сделать выводов о влиянии модификации на константу ассоциации.

Образование пиренильного эксимера при тандемной гибридизации мономодифицированных олигонуклеотидов на ДНК- и РНК-матрице неоднократно описано в литературе. В автореферате стоило привести минимальное сравнение полученных результатов с литературными данными, чтобы можно было сделать вывод о новизне этой части работы только на основе автореферата.

Вызывают вопросы квантовые выходы флуоресценции пиренового эксимера (на стр. 17). Для ряда соединений приведены значения в интервале 31.9-70.4%, что маловероятно для пиренового эксимера, учитывая, что квантовый выход мономера не превышает 30%.

Не очень понятно, почему спектры на рис. 7 и 8 не гладкие, при концентрации пробы 1 μM это выглядит как неисправность спектрофлуориметра.

Не очень понятен выбор остатка гуанозина в качестве соседнего для пиреновой пары – это безусловно вызывает дополнительное нежелательное тушение флуоресценции.

На стр. 1 в качестве одной из задач указывается необходимость изучить биологические свойства 2'-биспиренильных зондов. Исходя из представленных результатов не очень понятно, что имеется в виду под этим термином.

Основные результаты диссертации опубликованы в шести реферируемых научных публикациях в журналах, входящих в список ВАК и WoS. Представленные выводы обоснованы, соответствуют поставленным в диссертационной работе целям и в полной мере отражают объем полученного экспериментального материала.

Автореферат диссертации свидетельствует о том, что представленная диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», а О.А.Крашенинина заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

к.х.н., доцент, Сколковский институт науки и технологий, 143026 Москва, ул. Нобеля, 3, Инновационный центр Сколково, тел.: +7 926 524 85 70, e-mail: t.zatsepin@skoltech.ru
31/05/2017

Зацепин Т.С.

Подпись Зацепина Тимофея Сергеевича заверяю:

Менеджер по административным и кадровым вопросам Коновалова Л.Б.

МП

