

Отзыв

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

Разработка новых высокочувствительных и селективных зондов для детекции нуклеиновых кислот (НК) является активно развивающейся областью научных исследований. Это связано с тем, что, например, несмотря на то, что геном человека и многих других организмов был секвенирован и последовательности биологически важных НК известны, многое все ещё неизвестно о локализации и динамике этих биополимеров в клетках. Кроме того, гибридизационные зонды широко используются для количественной и качественной детекции определенных последовательностей НК при диагностике заболеваний, а также во многих фундаментальных исследованиях. Достоинства использования флуоресцентных меток в таких зондах очевидны по сравнению с, например, радиоактивными метками. Пирен как метка заслуживает отдельного внимания, как исключительно чувствительный к ближайшему окружению флуорофор способный образовывать эксимеры и эксиплексы.

Работа О.А. Крашенининой посвящена рациональному дизайну флуоресцентных гибридизационных зондов, представляющих собой различные конструкции пиренильных конъюгатов олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов), а также физико-химической характеристики этих зондов и использованию их для детекции РНК в растворе или в иммобилизованных клетках. Автором была проведена методическая работа по оптимизации структуры (в том числе, положения пиренильного остатка в последовательности, структуры и длины линкера между флуорофором и олигонуклеотидом, и других структурных особенностей) зондов трёх разных типов, а именно линейных, тандемных и типа “молекулярный маяк”, для достижения наиболее высокого соотношения сигнал-шум. Для рационализации полученных результатов с точки зрения структурной биологии были привлечены методы молекулярной динамики (МД). Наиболее оптимальные зонды были успешно использованы для высокочувствительной детекции РНК в растворе, а также для визуализации рРНК в клетках. Результаты диссертационной работы, полученной автором, были представлены на международных и отечественных конференциях, а также опубликованы в ряде экспериментальных статей.

Автореферат прекрасно написан, основные результаты работы освещены и полностью рационализированы на высшем уровне. Ниже приведены комментарии и вопросы к автореферату:

1. В первой части работы, при исследовании стабильности линейных зондов с РНК и ДНК мишенями было обнаружено, что введение пиренильного остатка в состав зонда уменьшает стабильность дуплекса с РНК и увеличивает стабильность дуплекса с ДНК. Некоторые суждения относительно природы наблюдаемых эффектов излишне категоричны, как например на стр. 7 “В случае же дуплекса 2'-биспиренильных конъюгатов с ДНК-мишенями остатки пирена, очевидно, интеркалируют в дуплекс...”. Так как молекулярная основа наблюдаемой стабилизации не была изучена, более выгодно смотрелись бы формулировки с использованием слова “возможно” вместе “очевидно” и.т.п. Результаты МД-симуляции дуплексов линейных зондов с РНК и ДНК (или экспериментальные структурные исследования), возможно, подтвердили бы заключения автора.

2. Интересно было бы исследовать (экспериментально, или же на теоретическом уровне) как влияет наличие отрицательных зарядов в составе линкера на способность к образованию эксимеров на стыке тандемных зондов. Также интересно, существуют ли сообщения (в литературных источниках) об использовании электростатических взаимодействий на стыке тандема для стабилизации взаимодействия флуорофоров.
3. При визуализации внутриклеточной рРНК с помощью пиренильных зондов автором была использована длина волны возбуждения 405 нм, однако, пиренильный флуорофор (в растворе) не поглощает свет с длиной волны более ~360 нм. С чем связан выбор длины волны 405 нм?

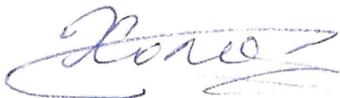
Приведенные комментарии носят второстепенный характер и ни в коем случае не умаляют научной ценности работы.

По актуальности выбранной темы, объему выполненных исследований, научной новизне и значимости результатов для практического использования диссертационная работа О.А. Крашенининой отвечает требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук (п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а Ольга Алексеевна Крашенинина заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 - биорганическая химия.

Postdoctoral Research Scholar, Department of Chemistry

The University of Iowa

Svetlana A. Kholodar, PhD



30 Мая 2017

E276 Chemistry Building, The University of Iowa, Iowa City, IA, 52245, USA

Тел. раб.: +1 (319) 335-0334; e-mail: svetlana-kholodar@uiowa.edu