

ОТЗЫВ

научного руководителя на диссертационную работу

Фань Фаня

«Синтез и физико-химические свойства флуоресцентных биоконъюгатов»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.04 – физическая химия.

Флуоресцентное мечение является важнейшим способом для изучения свойств биомолекул, таких, как нуклеиновые кислоты и белки, а также их качественного и количественного анализа, что и привело к его широкому применению в области наук о жизни, в частности, в иммуноферментном анализе и ПЦР в реальном времени. Наибольшим преимуществом флуоресцентного мечения являются простота, стабильность и безвредность. Выбор флуоресцентного красителя и метода конъюгации существенно влияет на чувствительность и селективность анализа. В настоящее время разработаны и широко применяются такие красители как флуоресцеины, родамины и цианины, каждый из которых обладает своими особенностями вследствие различий в структуре, поэтому в различных средах и даже для мечения разных биомолекул следует выбирать наиболее подходящий краситель. В связи с этим, глубокое изучение физико-химических свойств существующих флуоресцентных красителей и разработка новых видов имеют ключевое значение для развития данной отрасли.

Диссертационная работа Фань Фаня, посвященная установлению физико-химических свойств и зависимости структура-свойства ксантеновых и цианиновых красителей и их новых функциональных производных, а также их физико-химических свойств в составе биоконъюгатов в различных условиях, является актуальным исследованием, выполненным в рамках приоритетных направлений научной деятельности в Республике Беларусь.

На основе 3,5-диаминобензойной кислоты разработаны бифлуорофоры — (5-FAM)₂ и (6-FAM)₂. Выявлена повышенная стабильность спектральных характеристик (5-FAM)₂ по сравнению с (6-FAM)₂, обусловленная стерическими факторами. Установлено наличие изобестических точек, что подтверждает сложный характер фотофизических процессов в данных системах.

Установлено, что конъюгация мономерных флуоресцеинов и их бифлуорофоров с белками приводит к снижению относительного квантового выхода флуоресценции, но это снижение будет компенсироваться за счёт высокого коэффициента экстинкции. Определены перспективы использования бифлуорофоров для мечения белков.

Систематизированы данные о влиянии микроокружения (вязкость, содержание ПАВ) на флуоресцентные свойства цианиновых красителей Су3 и

Cy5 и обобщены эффекты растворимости, цис-транс-изомеризации и конъюгации с олигонуклеотидами на их свойства.

Впервые синтезирован ряд производных Cy5 и Cy7 с линкерами разной структуры и проведен сравнительный анализ их флуоресцентных характеристик в конъюгатах с ДНК. Установлена зависимость максимумов в спектрах поглощения и флуоресценции, Стоксова сдвига и интенсивности флуоресценции от положения и длины линкера, а также типа нуклеиновой кислоты (одноцепочечная/двухцепочечная).

Экспериментально доказана возможность использования гомологичного флуоресцентно-резонансного переноса энергии (Homo-FRET) для исследования интеркаляции красителя Sybr Green I в ДНК. Установлены количественные корреляции между концентрацией красителя, анизотропией флуоресценции и временем жизни возбужденного состояния.

Работа хорошо спланирована и выполнена на высоком методологическом уровне. Синтезированные соединения охарактеризованы современными физико-химическими методами. О практической значимости работы свидетельствуют акты внедрения в производственный процесс, а научная новизна подтверждается опубликованностью и последующей высокой цитируемостью полученных результатов. По результатам диссертационной работы Фань Фаня опубликовано 6 статей в рецензируемых журналах и тезисы 2 докладов.

В процессе выполнения работы Фань Фаня проявил способности к самостоятельному поиску и анализу научной информации, выдвижению и обоснованию научных гипотез, критическому анализу и изложению экспериментальных данных. Считаю, что диссертация Фань Фаня «Синтез и физико-химические свойства флуоресцентных биоконъюгатов» соответствует всем требованиям, предъявляемым Высшей аттестационной комиссией Республики Беларусь.

Ученая степень кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия может быть присуждена Фань Фаню за новые научно обоснованные теоретические и экспериментальные результаты, а именно: молекулярный дизайн и синтез карбоксифлуоресцеиновых бифлуорофоров (5-FAM)₂ и (6-FAM)₂ на основе 3,5-диаминобензойной кислоты и установленные их структурные и физико-химические свойства; установленные флуоресцентные свойства мономеров и бифлуорофоров флуоресцеина в составе белковых конъюгатов; выявленное влияние растворимости и цис-транс изомеризации на интенсивность флуоресценции красителей Cy3 и Cy5; результаты сравнительного анализа флуоресцентных свойств новых синтезированных производных цианиновых красителей Cy5 и Cy7 с линкерами различной структуры в составе конъюгатов с одно- и двухцепочечной ДНК; установленная зависимость интенсивности, анизотропии флуоресценции и времени жизни возбужденного состояния от соотношения концентраций красителя флуоресцентного красителя Sybr Green I, интеркалированного в двухцепочечную ДНК, в условиях гомологичного флуоресцентно-резонансного переноса энергии (Homo-FRET). Полученные результаты вносят существенный

вклад в понимание физико-химических свойств флуоресцентных красителей в составе биоконъюгатов.

Научный руководитель
зав. лабораторией химии биоконъюгатов
Института физико-органической химии
НАН Беларуси, кандидат хим. наук, доцент



В. В. Шманай

