

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской работе
ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский
государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»,
доктор физико-математических наук, профессор

А.А. Короновский

« 7 » *Июль* 2016 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Ждановой Надежды Григорьевны «Связь фотофизических параметров тирозиновых остатков в сывороточных альбуминах с изменением структуры белка под влиянием лигандов и денатурации», представленную на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика.

Диссертация Н.Г. Ждановой посвящена изучению оптического отклика ароматических аминокислотных остатков в сывороточных альбуминах (на примере сывороточного альбумина человека (САЧ) и бычьего сывороточного альбумина (БСА)) при связывании лигандов белком и его денатурации. Прикладное значение диссертации обусловлено выбором объектов исследования – основных транспортных белков плазмы крови. Полученные в работе результаты интересны для разработки методики быстрого определения структурных изменений альбуминов и являются актуальными с точки зрения медицины и фармакологии.

Научная значимость результатов диссертации определяется полученными в ней новыми знаниями об оптическом отклике тирозиновых остатков и его изменениях при денатурации белка, а также при специфичном и неспецифичном связывании лигандов, что позволяет расширить возможности оптических методов изучения конформационных перестроек белка. Рассмотрение тирозиновой флуоресценции позволяет регистрировать конформационные изменения белка, происходящие в локальной окрестности данных остатков и не влияющие на флуоресценцию триптофана, которую обычно рассматривают в качестве индикатора состояния белка.

Стоит отметить следующие основные результаты, полученные в диссертационной работе. Во-первых, в работе Н.Г. Ждановой методами время-разрешённой флуоресцентной спектроскопии впервые было определено время затухания флуоресценции тирозиновых остатков в белках, содержащих триптофан. Данный подход является новым и может быть применен к в исследованиях оптических свойств широкому классу тирозин-содержащих белковых макромолекул.

Далее, экспериментально было показано, что ряд структурных изменений САЧ при специфичном связывании детергента додецил-сульфата натрия (SDS) не отражается на флуоресценции триптофановых остатков в то время, как тирозиновая флуоресценция позволяет зарегистрировать эти изменения. На основании сравнения с БСА было показано, что указанные структурные изменения происходят в первом домене белка. На примере последовательной денатурации доменов альбумина с помощью гидрохлорида гуанидина было также показано, что тирозиновая флуоресценция является индикатором структурных изменений, происходящих в третьем домене белка. В указанных случаях усиление флуоресценции тирозиновых остатков определяется удалением соседних с ними функциональных групп, а не за счёт изменения эффективности переноса энергии на триптофановые остатки по диполь-дипольному механизму, как считалось в литературе.

В работе была проведена оценка чувствительности тирозиновой флуоресценции альбумина к связыванию веществ, близких по свойствам к основному физиологическому лиганду САЧ – жирным кислотам. Для этого была разработана модель формирования оптического отклика тирозиновых остатков, позволяющая оценить значение их эффективного сечения флуоресценции.

Важной частью диссертационной работы является исследование тирозиновой флуоресценции плазмы крови человека при добавлении SDS, близкого по свойствам к основному лиганду альбумина – жирным кислотам. Было показано, что изменение интенсивности флуоресценции обусловлено взаимодействием лиганда с САЧ.

Следует отметить, что работа не свободна от недостатков:

1. Для определения временных параметров флуоресценции триптофановых остатков в работе анализировалась кинетика затухания флуоресценции, полученная при регистрации на длине волны 355 нм. Далее, при анализе кинетики затухания флуоресценции для длины волны регистрации 318 нм время затухания триптофановых остатков не фиксировалось. Неясно, как изменится зависимость времени затухания флуоресценции тирозиновых

остатков от концентрации детергента, если при анализе кинетики затухания флуоресценции для длины волны регистрации 318 нм использовать временные параметры триптофановых остатков, определённые при регистрации на длине волны 355 нм.

2. Полоса комбинационного рассеяния воды перекрывается с полосой флуоресценции тирозиновых остатков, которая определяется в работе при разложении спектров флуоресценции при возбуждении на длине волны 280 нм. Производилась ли какая-либо корректировка спектров до разложения или автор пренебрегал вкладом комбинационного рассеяния?

3. При определении критической концентрации образования мицелл по отношению интенсивностей первого и третьего пиков флуоресценции пирена автором работы были получены разные значения отношения интенсивностей двух полос флуоресценции пирена I_1/I_3 в мицеллах для разных детергентов, а также для одного и того же детергента в буфере и в водном растворе. Однако в работе не указаны, причины такого различия.

4. При описании воздействия этанола на конформацию альбумина (гл. 3) не указан физиологически допустимый диапазон концентраций этанола.

Отмеченные недостатки не подвергают сомнению достоверность защищаемых положений и не влияют на общую положительную оценку работы.

Поставленные задачи решены, цель достигнута, выводы обоснованы. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточностью экспериментальных результатов и адекватностью методов исследования. Полученные в работе результаты вносят существенный вклад в оптику белковых молекул, в частности, в развитие методов флуоресцентной спектроскопии применительно к этому классу объектов и могут быть использованы в Физическом институте им. П.Н. Лебедева РАН, Институте спектроскопии РАН, Институте биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН и других организациях.

Результаты диссертации Н.Г. Ждановой опубликованы в авторитетных научных журналах, апробированы на многих международных и российских конференциях, на большинстве из которых доклады были представлены лично автором. Автореферат правильно отражает содержание диссертации.

Диссертация Н.Г. Ждановой представляет собой законченное исследование, научная значимость и оригинальность которого не вызывает

сомнения. Работа выполнена на высоком научном уровне и открывает широкие возможности для дальнейших исследований.

Считаем, что диссертационная работа Ждановой Надежды Григорьевны «Связь фотофизических параметров тирозиновых остатков в сывороточных альбуминах с изменением структуры белка под влиянием лигандов и денатурации», соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Н. Г. Жданова, заслуживает присуждения ей учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.05 – оптика.

Отзыв на диссертационную работу и автореферат диссертации Н. Г. Ждановой рассмотрен и утвержден на заседании кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», протокол №11/16 от «1» сентября 2016 г.

Отзыв составил:

Заведующий кафедрой оптики и биофотоники
ФГБОУ ВО «Саратовский национальный
исследовательский государственный университет
имени Н.Г. Чернышевского»,
доктор-физико-математических наук, профессор
Заслуженный деятель науки РФ

Валерий Викторович Тучин

410012 Саратов, Астраханская ул., 83

Тел.: +7(8452)210722

Электронная почта: tuchin@sgu.ru, tuchinvv@mail.ru

