

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Билана Дмитрия Сергеевича «Редокс-биосенсоры на основе флуоресцентных белков для *in vivo* исследований», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология

Исследования окислительно-восстановительных процессов в живых системах и разработка новых методов их осуществления являются актуальным направлением современной биологии, называемым редокс-биология. Предметом изучения этой активно развивающейся области является регуляция биологических окислительно-восстановительных реакций в нормальных и патологических условиях. Нарушение этой регуляции приводит к дисбалансу, в результате которого развивается окислительный стресс, который лежит в основе патогенеза и старения. Данные современной редокс-биологии убедительно доказывают, что активные формы кислорода и азота, являющиеся ключевыми участниками окислительного стресса, не только повреждают клетки, но в случае контролируемой регуляции их концентраций служат важными внутриклеточными сигнальными медиаторами. При этом ограниченное время жизни различных соединений с высокой реакционной способностью из-за их взаимодействия со множеством потенциальных мишеней во внутриклеточной среде является главной трудностью при изучении их биологических функций и процессов, в регуляцию которых они вовлечены. Стремительное развитие и популярность редокс-биология получила, в частности, благодаря появлению новых подходов с применением генетически кодируемых флуоресцентных сенсоров. Такие инструменты в виде гена доставляются в систему и позволяют по флуоресцентному сигналу анализировать динамику различных событий.

Билана Д.С. участвовал в разработках нескольких генетически кодируемых сенсоров, позволяющих детектировать различные окислительно-восстановительные параметры клетки. Судя по автореферату, в его диссертационной работе описаны новые типы таких инструментов, в том числе сенсоры для регистрации окислительно-восстановительного состояния глутатиона и уникальный сенсор для определения активных форм галогенов, продуцируемых в организме иммунными клетками. Коллекция сенсоров, разработанная при личном участии автора или под его руководством, применяются многими другими лабораториями, что наглядно демонстрирует важность проделанной работы Билана Д.С.

Помимо разработок новых сенсоров, в диссертации большое внимание уделено демонстрации потенциала их применения. Например, была исследована динамика окислительно-восстановительных параметров в живых системах при моделировании патологических процессов: ишемические состояния, воспалительные процессы, метаболические нарушения. Представленные данные были получены как на разных типах клеток, так и, что еще более ценно, в системах *in vivo* в тканях грызунов и рыб *Danio rerio*. Применены подходы одно- и мультифотонной флуоресцентной микроскопии, регистрации сигнала через имплантированные в глубокие ткани мозга животных световоды, методы спектроскопии комбинационного рассеяния.

Билан Д.С. последовательно описывает реализацию всех поставленных задач: от разработки сенсора и определения его свойств до создания новых *in vivo* моделей с применением указанных типов инструментов. Таким образом, автор отвечает на ряд конкретно поставленных биологических вопросов, среди которых особенности динамики

ряда окислительно-восстановительных параметров в различных типах клеток и тканей при патологических состояниях. Данные результаты имеют как научную новизну, так и практическую значимость, и вносят существенный вклад в развитие редокс-биологии.

Достоверность и научная новизна приведённых в автореферате результатов и выводов подтверждается большим объёмом проведённых экспериментальных исследований и количеством научных публикаций в изданиях, входящих в перечень ВАК. В качестве замечания, не снижающего общего положительного впечатления от работы, отмечу недостаточно подробное описание методической стороны проведённых исследований. В автореферате не представлены схемы проведённых экспериментов (за исключением рис. 17), не описаны методы их калибровки и алгоритмы обработки экспериментальных данных.

Данные замечания не снижают общего положительного впечатления от работы. Основываясь на материалах, представленных в автореферате, считаю, что диссертационная работа Билана Дмитрия Сергеевича «Редокс-биосенсоры на основе флуоресцентных белков для *in vivo* исследований» соответствует критериям, которые предъявляются к докторским диссертациям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., а её автор Билан Дмитрий Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Доктор технических наук по специальности 05.11.07 – Оптические и оптико-электронные приборы и комплексы, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-технологический центр уникального приборостроения Российской академии наук (НТЦ УП РАН), заведующий Лабораторией акустооптической спектроскопии

А. Мачихин

Мачихин
Александр
Сергеевич

Контактные данные:
117342, РФ, г. Москва, ул. Бутлерова, д. 15
E-mail: machikhin@ntcup.ru
Тел.: +7 (495) 333-24-31

Подпись Мачихина А.С. *удостоверяю*
Начальник отдела управления персоналом
НТЦ УП РАН



(Handwritten signature)

Наймушина
Ирина
Анатольевна