

Федеральное государственное учреждение
**«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»**

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 954-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru

20.03.2016 № 12307-2121-862

На № 162-651.4-700 от 20.03.2016

УТВЕРЖДАЮ

Директор
Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук
Чл.-корр. РАН, профессор
Попов В.О.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Ямпольского Ильи Викторовича
«Строение и механизмы функционирования новых субстратов
биолюминесценции (люциферин) и хромофоров флуоресцентных белков»,
представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по
специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Диссертационная работа И.В. Ямпольского посвящена изучению новых химических механизмов, лежащих в основе излучения света некоторыми живыми организмами, и их практическому применению. Актуальность и практическая значимость работы определяется насущной необходимостью биохимии, медицинской химии и фармакологии в визуализации процессов, происходящих на клеточном уровне в живых организмах. Все большее значение в этом плане в настоящее время приобретает флуоресцентный и биолюминесцентный имиджинг, для успешного применения которого притрешение разнообразных задач необходим поиск новых эффективных природных маркеров. В целом ряде случаев высокие требования, предъявляемые к таким биологическим инструментам, требуют четкого установления структуры всех компонентов сложной люминесцентной или флуоресцентной системы и механизмов их действия. Именно в таком ключе и выполнена работа И.В. Ямпольского.

Диссертация И.В. Ямпольского построена по классической схеме. Она состоит из введения, обзора литературы, изложения результатов работы и их обсуждения, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Во введении сформулирована цель исследования и обоснована его актуальность. Литературный обзор посвящен описанию флуоресцентных белков и их хромофоров, а также основных биолюминесцентных (люциферин-люциферазных и фотопротеиновых) систем наряду со способами их применения. Обзор содержит более 350 ссылок, написан хорошим языком и прекрасно читается. В разделе «Результаты и обсуждение» приводятся детали изучения механизма автоокисления синтетического хромофора GFP, синтез и изучение свойств борированного аналога хромофора GFP, создание мутантного флуоресцентного белка WasGFP, а также подробное изучение уникальных биолюминесцентных систем почвенного червя *Fridericia heliota* и высших грибов: установление структур люциферинов, синтез люциферинов и их функциональных аналогов, определение механизмов биолюминесценции. Приведены реализованные схемы синтеза и встречного синтеза природных соединений, а также подробные спектральные характеристики изучаемых объектов. При выполнении работы автор поставил себе ряд задач, которые с успехом реализовал:

1. С использованием синтетических модельных соединений детально изучен механизм автоокисления GFP-подобного зеленого хромофора с образованием красного хромофора DsRed-типа, обнаруженного в составе ряда флуоресцентных белков.
2. Создан флуоресцентный краситель нового типа на основе конформационно-фиксированного хромофора зеленого флуоресцентного белка GFP.
3. Впервые получен флуоресцентный белок, содержащий депротонированный остаток триптофана в составе хромофора флуоресцентного белка.

4. Выделен люциферин *Fridericia heliota*, установлено и доказано встречным синтезом его химическое строение. Установлен механизм биолюминесцентной реакции с его участием.
5. Выделены природные аналоги люциферина *Fridericia heliota*, определено их химическое строение.
6. Впервые установлено химическое строение люциферина высших грибов и его биосинтетического предшественника. Впервые осуществлен встречный синтез люциферина высших грибов. Синтезирован ряд функциональных аналогов люциферина грибов, изучена их активность в реакции с люциферазой грибов.

Новизна полученных результатов и их практическая значимость не вызывает сомнения. Подробная техническая информация о проведенных исследованиях дана в экспериментальной части. Экспериментальная часть работы выполнена на современном методическом уровне. Достоверность полученных результатов подтверждается данными современных физико-химических методов исследования: ЯМР спектроскопии на ядрах ^1H и ^{13}C , а также масс-спектрометрии высокого разрешения.

Работа изложена на 219 страницах, содержит 34 схемы, 83 рисунка и 16 таблиц. Диссертация обобщает данные 27 статей в ведущих российских и международных журналах (индексируемых Web of Science и рекомендованных ВАК). Опубликованные работы и автореферат полностью отражают содержание данной диссертационной работы.

Работа практически лишена стилистических и методических недостатков. К замечаниям, не влияющим на общую положительную оценку данной работы, стоит отнести следующее:

- 1) В обзоре литературы не хватает завершающего обобщения, которое бы подводило читателей к целям и задачам данной диссертационной работы. Заключение имеется лишь в первой части обзора, посвященной синтетическим аналогам хромофоров флуоресцентных белков.
- 2) Не для всех твердых соединений приведены температуры плавления.

- 3) Для соединений, очищенных колоночной хроматографией, не указаны факторы удерживания (R_f).
- 4) Некоторые приведенные схемы, рисунки и таблицы имеют непереведенные английские термины, для которых нет расшифровки в списке сокращений.
- 5) Имеются неточности в оформлении текста диссертации, например, часть Рисунка 3.4.6 (с. 83) выходит за границы листа, а на Рисунке 3.8.8 (с.137) есть нечитаемые надписи.
- 6) В работе встречается ряд грамматических ошибок (пропущенные запятые).

Сделанные замечания не являются принципиальными и не сказываются на общем положительном впечатлении от работы. Диссертация представляет собой законченную научную работу, выполненную на высоком методическом уровне. По поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне диссертация Ямпольского Ильи Викторовича полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями постановления Правительства РФ от 24.04.16 №335), а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия.

Отзыв обсужден и утвержден на семинаре лаборатории физической биохимии, протокол № 09 от 26.08.2016 г.

Профессор, д.х.н.

Савицкий А.П.

Заведующий лабораторией физической биохимии
ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН
г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2.
119071 Российская Федерация
тел.: (495)-954-6512
e-mail: asavitsky@inbi.ras.ru

