

## **Отзыв**

**на автореферат диссертации Бубликова Григория Сергеевича «Фотофизические свойства флуоресцентных маркеров iRFP713, iRFP682 и iRFP670, созданных на основе бактериальных фитохромов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология**

**Актуальность темы.** Одним из перспективных направлений в разработке биомаркеров, отвечающих ближне-инфракрасному окну прозрачности тканей (650-900 нм), является создание флуоресцентных маркеров на основе комплексов бактериальных фитохромов с биливердином – хромофором, который является продуктом распада гема. Систематического изучения физико-химических свойств флуоресцентных биомаркеров на основе бактериальных фитохромов не проводилось. В связи с этим актуальной задачей является исследование разворачивания флуоресцентных белков под действием денатурирующих агентов, изучение зависимости спектральных характеристик от структуры белка и установление локализации цистeinовых остатков, способных связывать биливердин.

**Научная новизна исследования.** Впервые показано, что цистeinовый остаток в GAF домене белков iRFP682 и iRFP670 (Cys256) способен ковалентно связывать биливердин. Впервые установлено, что наиболее узкие и коротковолновые спектры поглощения и флуоресценции имеют белки с двумя цистeinовыми остатками в PAS и GAF доменах.

**Научно-практическая значимость.** Установлена причина необратимого характера денатурации ближне-инфракрасных флуоресцентных белков, состоящая в наличии биливердина, ковалентно связанного с полипептидной цепью белка. Продемонстрировано существование аллостерического влияния наличия цистeinовых остатков в PAS домене димерных белков iRFP713, iRFP682 и iRFP670 на способность связывания биливердина с цистeinовыми остатками в GAF домене. Результаты диссертационной работы имеют и определенную практическую ценность для разработки новых флуоресцентных биомаркеров.

Поставленные диссидентом задачи соответствуют цели исследования и полностью решены. Диссертационная работа Г.С.Бубликова, научными руководителями которой являются кандидат биологических наук О.В.Степаненко и доктор физико-математических наук, профессор К.К.Туроверов, выполнена с использованием современных методов, адекватных поставленным задачам. Выводы диссертационной работы логично обоснованы и сформулированы, исходя из представленного фактического материала. Результатом проведенных исследований явилось создание варианта iRFP713/13/V256C, имеющего самый высокий квантовый выход флуоресценции среди всех существующих в настоящее

время маркеров на основе бактериальных фитохромов. Результаты диссертационной работы доложены на научных российских и международных конференциях, а также опубликованы в рецензируемых изданиях, входящих в перечень ВАК РФ («Цитология», «FEBS Journal», «Scientific Reports»).

Таким образом, диссертация Григория Сергеевича Бубликова «Фотофизические свойства флуоресцентных маркеров iRFP713, iRFP682 и iRFP670, созданных на основе бактериальных фитохромов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 – молекулярная биология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по выяснению факторов, определяющих спектральные свойства флуоресцентных белков iRFP713, iRFP682 и iRFP670, созданных на основе бактериальных фитохромов, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор заслуживает искомой степени.

Главный научный сотрудник  
лаборатории структурной биохимии белка  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
«Институт биохимии им. А.Н. Баха» Федерального исследовательского центра  
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,  
Лауреат Государственной премии СССР,  
Заслуженный деятель науки РФ,  
доктор химических наук по специальности:  
02.00.15 - Кинетика и катализ (по химическим наукам)  
Профессор

Российская Федерация, 119071, г. Москва,  
Ленинский проспект, дом 33, строение 2,  
Контактный телефон: 8(495) 952-5641,  
Электронная почта: bikurganov@inbi.ras.ru

*Курганов Б.И.*  
  
Подпись *Б.И. Курганов* подтверждается *Союзович* 14 апреля 2016 г.

119071 г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2,  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Институт биохимии им. А.Н. Баха» Федеральный исследовательский центр  
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,  
телефон: 8(495) 952-5641, факс: 8(495) 954-2732.

14 апреля 2016 г.