

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Кононова Алексея Игоревича на тему «Электронно-возбужденные состояния ДНК и комплексов ДНК с нанокластерами серебра», представленную на соискание ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 01.04.07 — Физика конденсированного состояния.

Диссертационная работа А.И. Кононова посвящена важной проблеме современных физики конденсированного состояния, фотохимии и теоретической химии, связанной со все возрастающими потребностями в разработке эффективных способов защиты от повреждений молекулярной структуры ДНК под действием УФ-облучения, интенсивность которого постоянно увеличивается из-за разрушения озонового слоя вследствие техногенных процессов. Очевидно, для решения этой проблемы необходимо определить молекулярные механизмы фотохимических реакций, приводящих к повреждению ДНК, и те участки ДНК, которые наиболее подвержены фотохимической активации. Другой немаловажной задачей является поиск путей дезактивации возбужденных состояний ДНК путем переноса энергии возбуждения на подходящий для этого акцептор. В диссертации А.И. Кононова в качестве таких акцепторов выступают нанокластеры серебра с различным зарядом и числом атомов. Поставленные задачи потребовали от автора детально проанализировать конформационные свойства молекул ДНК и влияние их конформации на природу электронно-возбужденных состояний (ЭВС), спектры поглощения, люминесценции и возбуждения люминесценции как самих молекул ДНК, так и их комплексов с нанокластерами серебра.

Таким образом, диссертационная работа А.И. Кононова является, несомненно, актуальной и своевременной.

Диссертация А.И. Кононова состоит из введения, шести глав, заключения и библиографического списка. Глава 1 представляет собой подробный и хорошо структурированный литературный обзор, дающий исчерпывающее представление о современном состоянии исследований возбужденных состояний ДНК и комплексов ДНК с нанокластерами серебра. Критический анализ литературы позволил автору сформулировать нерешенные проблемы в этой области, которые и определили круг решаемых в диссертации задач, включающий изучение конформационной зависимости электронных спектров возбуждения и природы ЭВС, а также динамики электронного возбуждения в цепочках ДНК ДНК, определение структуры и фотофизических особенностей комплексов ДНК с флуоресцирующими кластерами серебра, радиуса и механизмов миграции энергии электронного возбуждения в комплексах ДНК с красителями и нанокластерами серебра, изучение основных фотопроцессов в комплексах нанокластеров серебра с ДНК.

В главе 2 диссертационной работы описаны экспериментальные и теоретические методы и подходы, использованные автором для решения поставленных задач. Спектр этих методов весьма широк и включает стационарную и временную (с фемтосекундным разрешением) люминесцентную, абсорбционную спектроскопию и спектроскопию кругового дихроизма в УФ и видимой областях спектра, флуоресцентную спектроскопию насыщения, фотоэлектронную спектроскопию, масс-спектрометрию, моделирование методом молекулярной динамики и квантовохимические расчеты высокого уровня.

В процессе исследований, результаты которых отражены в диссертации, автору удалось получить ряд новых важных результатов, имеющих как высокую фундаментально-научную значимость, так и несомненную практическую ценность. Следуя логике развития работы, автору следовало прежде всего исследовать природу низко-энергетических ЭВС в ДНК (глава 3), поскольку именно такие состояния имеют достаточно высокое сечение захвата солнечного излучения в ближней и средней УФ-области. Для этого методами CIS(D), ADC(2), CC2 с использованием расширенных, в том числе, корреляционно-согласованных, базисных наборов (cc-pVDZ, TZVP, 6-311++G**, aug-cc-pVDZ и aug-cc-pVTZ) были проведены квантовохимические расчеты спектров электронного возбуждения стопочных (стэкинг) димеров тимина, аденина и цитозина, которые могут реализоваться на одной нити ДНК в ее канонической В-форме и некоторых неканонических формах, таких как i-мотив. Было показано, что стэкинг-структуры азотистых оснований с геометрией, определяемой расстоянием между серединами связей C5-C6 $\approx 3.3 \text{ \AA}$ и дигедральным углом C5-C6- C6-C5 $\approx 50^\circ$, могут служить наиболее эффективными центрами (hot spots), взаимодействующими с земной солнечной радиацией, интенсивность которой резко возрастает в области длин волн $> 300 \text{ нм}$, экситонные ЭВС этих структур лежат области 300 нм спектра возбуждения ДНК. Автор убедительно доказывает, что такие стэкинг-структуры наиболее вероятны в неканонических спиральных формах ДНК и в неканонической структуре i-мотива.

В главе 4 диссертационной работы А.И. Кононова исследована динамика ЭВС в различных структурах ДНК. Для этого была изучена стационарная люминесценция и кинетика люминесценции различных форм цитозиновых цепочек ДНК на примере олигонуклеотида (dC)₁₀. Показано, что для односпиральной модели этого олигонуклеотида флуоресценция происходит из возбужденного состояния отдельных цитозиновых мономеров, т.е. возбуждение локализовано на мономере, тогда как для четырех-цепочечной интеркалированной структуры i-мотива происходит быстрая релаксация в делокализованное экситонное состояние, что не наблюдается для других форм ДНК. Важно отметить, что эти результаты находят свое подтверждение при исследовании нативной двуспиральной формы тимусной ДНК, для которой обнаруживается быстро затухающая люминесценция мономерных форм азотистых оснований с субпикосекундными временами жизни, и длинноволновая люминесценция с временем жизни наносекундного масштаба, относящаяся к «неканоническим» стэкинг-димерам азотистых оснований, характеризующимся низкоэнергетическими переходами и способными наиболее эффективно поглощать солнечную радиацию.

Глава 5 диссертационной работы А.И. Кононова посвящена изучению структуры комплексов ДНК с нанокластерами серебра и ЭВС этих комплексов. Важным результатом этой главы диссертации является тот установленный автором факт, что люминесцирующие кластеры серебра на ДНК имеют нитевидную структуру, причем их спектр люминесценции сильно зависит от углов изгиба звеньев цепочки и может покрывать практически всю видимую область спектра. Ионы серебра в комплексах с ДНК связываются с цитозинами, формируя пары C-Ag⁺-C, стабилизирующие дуплексы ДНК. Важно отметить, что нитевидная структура кластеров, которая, очевидно, не является наиболее стабильной в свободном состоянии кластеров, в комплексе с ДНК стабилизирована двумя параллельными цепочками ДНК. Результаты квантовохимических расчетов комплексов показывают, что их хромофорные центры состоят из 3-6 атомов серебра с положительным

зарядом кластера. В работе получены оптимизированные структуры кластеров Ag_3^{+1} , Ag_4^{+2} , Ag_6^{+2} , излучающих в фиолетовой, зеленой и красной областях спектра.

Наконец, в главе 6 описаны результаты исследований динамики ЭВС в комплексах ДНК с нанокластерами серебра. Значительное внимание в этой главе автор уделяет изучению природы «темновых» состояний в этих комплексах, которые к настоящему моменту весьма мало исследованы. Автором был разработан оригинальный модифицированный метод спектроскопии насыщения флуоресценции для непосредственного измерения сечения поглощения флуоресцентных кластеров в смеси синтезированных частиц, а также для определения констант скорости образования и распада для темнового состояния кластеров, использующий три различных режима возбуждения импульса, а именно пикосекундный и наносекундный импульсы, а также непрерывное возбуждение. С помощью этого метода на примере кластеров Ag на 12-мерной одноцепочечной ДНК 5'-ССТССТТСССТСС-3' и на ДНК тимуса теленка, излучающих на длине волны ~620 нм, было показано, что образование темновых состояний является достаточно эффективным процессом и происходит на наносекундной временной шкале.

Важным результатом этой части работы является обнаруженная в комплексах ДНК с кластерами серебра эффективная миграция энергии возбуждения с участка, насчитывающего до 30 оснований, причем перенос энергии происходит за время быстрее 100 фс, что требует делокализации возбуждения между основаниями ДНК, не связанными с атомами Ag. Оценки, выполненные в работе, показывают, что размер области делокализации может составлять 4-7 оснований в цепочке.

На основании всего вышеизложенного можно утверждать, что научная новизна и практическая значимость диссертационной работы А.И. Кононова также не вызывают сомнения. Тем не менее, по диссертации следует сделать некоторые замечания.

1. Для описания структуры димеров азотистых оснований автор использует 2 параметра: расстояние между серединами связей C6–C5 (d) и двугранный угол C5–C6–C6–C5 (η). Между тем, для описания ориентации молекул в димере недостаточно двух указанных структурных параметров, поскольку очевидно, что они не будут меняться при вращении каждого из мономеров вокруг своей связи C6–C5, а также при вращении каждого из мономеров вокруг связи C6–C5 другого мономера, но взаимная ориентация мономеров при таких вращениях будет изменяться. Отсюда возникает необходимость еще четырех структурных параметров димера, например, углов связи C6–C6 с плоскостями каждого из мономеров и углов C5–C6–C6 для каждого мономера. Возникает вопрос, как были получены остальные параметры взаимной ориентации в димере? Были ли они оптимизированы при фиксированных значениях пары указанных параметров или они обусловлены жесткостью скелета цепи ДНК, к которой «пришиты» образующие димер азотистые основания?
2. На рис. 3.6.1 автор приводит схему строения i-мотива ДНК. В тексте диссертации хорошо было бы иметь более четкое представление о его молекулярной структуре, чтобы понять, как именно интеркалированы дуплексы в нем, и как связаны цепи в каждом дуплексе. Рисунок такого представления не дает. В этом смысле, рисунок, приведенный в презентации в левой части слайда 23, гораздо более информативен. Следовало бы именно его поместить в диссертацию.
3. На стр. 277 автор отмечает, что «...выход «мономерной» флуоресценции в $i-(dC)_{10}$ составляет около 50%». Сам по себе этот факт не является основанием для вопроса о

том «куда уходит остальная часть возбуждения в $i-(dC)_{10}$?», поскольку возбуждение может релаксировать и безизлучательно, особенно в полимерных цепях из-за колебаний и вращений цепи. Правомерность поставленного автором вопроса связана именно с обсуждаемым ниже наличием нескольких экспонент в затухании люминесценции.

4. В тексте диссертации хотелось бы видеть если не доказательства, то хотя бы обоснования и/или комментарии по поводу однозначности и/или безальтернативности предложенных структур нанокластеров серебра с различными моделями ДНК, поскольку из текста неясно, какие еще структуры анализировались на предмет соответствия теоретических и экспериментальных данных, а пассаж «до достижения разумного согласия» (стр. 314) не очень информативен.
5. Возникает вопрос, почему триплетное состояние кластера серебра является темновым, т.е. неизлучающим (стр. 324)? Спин-орбитальное взаимодействие, обусловленное наличием тяжелых металлов, должно было бы привести к снятию спинового запрета на излучение с триплетного уровня. Во всяком случае, во многих приложениях фотоники тяжелые металлы вводят в структуру люминофоров именно для этого.
6. Не очень понятно, как спектры излучения, представленные на рис. 6.3.4, могут быть «проявлением нелюминесцирующего (темнового) кластера» (стр. 349).
7. По некоторым местам в русском тексте можно заметить, что они, вероятно, являются результатом работы гугл-переводчика с английского, например, «...спектры возбуждения позволяют селективную регистрацию...» (стр. 210), «...количество CPD является продуктом поглощения и квантовой эффективности...» (стр. 213), «Референсные измерения сечения поглощения...» (стр. 323).

Необходимо подчеркнуть, что сделанные замечания носят редакционный или дискуссионный характер и не отражаются на общей высокой оценке работы.

Диссертация Кононова Алексея Игоревича на тему: «Электронно-возбужденные состояния ДНК и комплексов ДНК с нанокластерами серебра» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 01.09.2016 № 6821/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Кононов Алексей Игоревич заслуживает присуждения ученой степени доктора физико-математических наук по специальности 01.04.07 — Физика конденсированного состояния. Пункт 11 указанного Порядка диссертантом не нарушен.

Член диссертационного совета
Врио директора Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Институт
высокомолекулярных соединений
Российской академии наук, д.х.н.



Якиманский Александр Вадимович

17 августа 2020 года

