

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на диссертацию Николаева Дмитрия Михайловича
“Разработка флуоресцентных генетически кодируемых сенсоров
клеточного мембранного потенциала на основе археородопсина-3”,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.4. Физическая химия

Диссертационная работа Николаева Дмитрия Михайловича была посвящена разработке новых флуоресцентных генетически кодируемых сенсоров клеточного мембранного потенциала на основе археородопсина-3 путем комбинированного применения методов направленной эволюции и направленного дизайна.

Выполнение поставленной задачи требовало от Николаева Д.М. решения следующих подзадач.

1. Разработка компьютерных квантово-механических/молекулярно-механических моделей для последующего компьютерного дизайна. Для этого необходимо было как развитие ранее разработанных методов и создание нового программного кода, так и адаптация существующих программных пакетов.
2. Определение механизма, отвечающего за значительное увеличение интенсивности флуоресценции в мутантных вариантах археородопсина-3 из класса Archers относительно белка дикого типа и потенциал-зависимости флуоресцентного сигнала этих белков. Для этого в рамках исследования проводился сравнительный анализ белков из класса Archers, полученных методом направленной эволюции в предыдущих работах, и археородопсина-3 дикого типа с использованием разработанных компьютерных моделей и экспериментальных методов, включая методы генетической инженерии, методы абсорбционной, флуоресцентной и рамановской спектроскопии.
3. На основе разработанных в пункте 1 компьютерных моделей и полученных в пункте 2 данных о механизме флуоресценции и ее потенциал-зависимости, проведение направленного дизайна

новых генетически кодируемых сенсоров клеточного мембранного потенциала с увеличенной яркостью флуоресцентного сигнала. Для этого в рамках исследования на основании результатов компьютерного моделирования был предложен набор мутантных вариантов археородопсина-3. При помощи методов генетической инженерии был проведен синтез предложенных белков. Для всех белков были изучены характеристики их флуоресцентного сигнала. Показано, что белки обладают увеличенной интенсивностью флуоресценции относительно ранее опубликованных сенсоров мембранного потенциала на основе археородопсина-3. Показана потенциал-зависимость флуоресценции полученных белков.

Николаев Д.М. успешно выполнил поставленные задачи. Результаты исследований представлены в 6 статьях, опубликованных в ведущих научных изданиях, 5 из которых являются журналами первого квартиля и 1 является журналом второго квартиля. Результаты также были доложены на 1 международной конференции и 1 всероссийской конференции с международным участием. За время работы над диссертацией Николаев Д.М. продемонстрировал высокий уровень самостоятельности, аналитических и практических навыков.

Считаю, что диссертация Николаева Д.М. "Разработка флуоресцентных генетически кодируемых сенсоров клеточного мембранного потенциала на основе археородопсина-3" удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4. Физическая химия.

08.04.2025

Рязанцев Михаил Николаевич, д.х.н.
доцент кафедры медицинской химии СПбГУ
г.н.с. лаб. биогибридных технологий СПбГУ

Подпись руки Рязанцева М.Н.
завершено

