

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Самохвалова Алексея Владимировича «Изучение взаимодействия аптамеров с охратоксином А: количественные закономерности и аналитическое применение», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия»

Одна из важных и актуальных задач современной биохимии – изучение молекулярных основ лиганд-рецепторных взаимодействий, особенно с учетом открывшихся в последние годы возможностей направленного конструирования рецепторных молекул разных типов на основе биополимеров. Крайне перспективным новым классом биорецепторов являются аптамеры – олигонуклеотидные одноцепочечные структуры. Аптамеры имеют ряд неоспоримых преимуществ по сравнению с широко применяемыми для селективного связывания антителами – возможность *in vitro* отбора на любой лиганд, простота наработки требуемых количеств аптамера химическим синтезом, стандартные процедуры введения в структуру аптамера функциональных групп без ухудшения лиганд-связывающих свойств, возможность многократного использования с полной регенерацией.

Неотъемлемой частью характеристики рецепторных молекул является определение количественных параметров взаимодействия с лигандом и их зависимости от состава реакционной среды. В диссертации А.В. Самохвалова на примере охратоксина А (ОТА) как лиганда проведена характеристика структуры ОТА-связывающего аптамера и показана важная роль ионов двухвалентных металлов в образовании аптамером реакционноспособной конформации. Параметры взаимодействия ОТА-аптамер определены тремя методами – регистрацией поляризации флуоресценции, флуоресцентной спектроскопией и равновесным диализом. Разработан и обоснован детальный алгоритм тестирования связывающей способности аптамеров измерением поляризации флуоресценции; показаны преимущества этого подхода. Впервые обнаружен эффект переноса энергии между ОТА и аптамером при их связывании, тщательно исследованный с построением матриц экстинкции-эмиссии. На основании полученных данных продемонстрирована возможность применения данного эффекта как для определения константы диссоциации комплекса рецептор-лиганд, так и для специфичной детекции ОТА.

Представленная работа сочетает изучение особенностей образования комплекса ОТА-аптамер и разработку методик аптамерного анализа ОТА для мониторинга этого опасного загрязнителя в продуктах питания. Поскольку эффективный и массовый мониторинг возможен только при использовании простых и высокопроизводительных аналитических методик, для решения данной задачи диссертантом разработана и охарактеризована методика поляризационного флуоресцентного аптамерного анализа, характеризующаяся экспрессностью и простотой. Предложен оригинальный принцип применения в поляризационном флуоресцентном анализе молекулярных якорей, нивелирующих высокую подвижность комплекса аптамер-лиганд и благодаря этому существенно повышающих чувствительность анализа. На примере тестирования проб вина продемонстрировано,

что разработанная методика обеспечивает достаточную чувствительность для определения ОТА в концентрациях ниже МДУ.

Диссертационная работа А.В. Самохвалова «Изучение взаимодействия аптамеров с охратоксином А: количественные закономерности и аналитическое применение» по актуальности темы, объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов является законченной работой высокого теоретического и экспериментального уровня. Автореферат и диссертационная работа А.В. Самохвалова полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (с последующими изменениями в редакции Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 № 1168), а её автор, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – «Биохимия».



Осипов Александр Павлович

Кандидат химических наук,
код специальности ВАК – 02.00.15

(Кинетика и катализ),

старший научный сотрудник НИТУ "МИСИС"

«30» сентября 2019 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»», кафедра функциональных наносистем и высокотемпературных материалов, Институт новых материалов и технологий

119049, Москва, Ленинский проспект, д. 4

aposipov@mail.ru

Тел. +7 495 939 34 07



Подпись

заверяю

Зам. начальника
отдела кадров МИСиС



Кузнецова А.Е.

«30» 09 2019 г.