

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени**  
**кандидата химических наук Метелешко Юлии Игоревны**  
**на тему: «Молекулярное моделирование мутантных форм**  
**флуоресцентных белков на основе LOV доменов с измененными**  
**спектральными свойствами»**  
**по специальности 1.4.4 – «Физическая химия»**

Диссертационная работа Метелешко Юлии Игоревны посвящена применению современных методов молекулярного моделирования для изучения флуоресцентных белков, полученных на основе LOV доменов, а также модификации их спектральных свойств. LOV домены являются малыми хромофорными модулями, входящими в состав различных фоторецепторов. Впервые они были обнаружены в составе растительного фоторецептора фототропина, и с тех пор продолжают активно изучаться. Одной из причин неувядающего интереса к LOV доменам является перспективность их применения для решения ряда различных практических задач. Одним из наиболее известных направлений применения LOV доменов является создание на их основе флуоресцентных меток, флавиносодержащих флуоресцентных белков, которые обладают рядом преимуществ, основным из которых является их эффективность при использовании не только в аэробных, но и в анаэробных условиях. Таким образом, диссертационная работа Метелешко Ю.И. несомненно является *актуальной*, так как нацелена на изучение структур и улучшение спектральных свойств существующих и активно применяющихся флуоресцентных белков, полученных на основе LOV доменов.

Диссертационная работа Метелешко Ю.И. имеет классическую структуру. Она состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка используемых обозначений и сокращений, списка литературы, содержащего 85 наименований, и четырех приложений. Диссертационная работа изложена

на 125 страницах машинописного текста, содержит 23 таблицы и хорошо иллюстрирована 72 рисунками.

Во введении автор обосновывает актуальность диссертационной работы, формулирует цель и задачи, указывает научную новизну работы, представляет выносимые на защиту положения.

Первая глава диссертационной работы традиционно посвящена литературному обзору. В главе автор подробно рассматривает исследуемые объекты – LOV домены, а именно структуру LOV доменов, присущий им фотоцикл, влияние на него различных аминокислотных замен. Также детально обсуждаются направления практического применения LOV доменов, в том числе и в качестве флуоресцентных меток, рассматриваются разные существующие флавинодержащие флуоресцентные белки, их преимущества и недостатки.

Во второй главе, состоящей из шести разделов, автор приводит описание и протоколы используемых методов, обсуждает построение моделей для исследуемых белков. В работе используются современные методы молекулярного моделирования: молекулярная динамика, комбинированный метод квантовой механики / молекулярной механики и методы XMCQDPT2, SOS-CIS(D), TD-DFT.

Третья глава, в которой автор приводит полученные результаты и их обсуждение, является основной в данной диссертационной работе.

Раздел 3.1 посвящен поиску наборов замен аминокислот, находящихся рядом с хромофором, флавиномононуклеотидом, флавинодержащего флуоресцентного белка iLOV, которые будут обеспечивать батохромный сдвиг максимумов поглощения и испускания.

В разделе 3.2 продолжается работа над белком iLOV, а именно над поиском его вариантов, для которых будут характерны еще большие батохромные сдвиги. Для достижения этой цели автор подбирает другие хромофоры, аналогичные флавиномононуклеотиду, однако имеющие меньшие энергии поглощения.

В разделе 3.3 для предложенных вариантов iLOV рассчитываются фотофизические свойства, знание которых может понадобиться для практического применения этих белков.

В разделе 3.4 рассматриваются первые обратимо фотопереключаемые белки, полученные из LOV доменов, а именно rsLOV1 и rsLOV2, а также LOV домен из YtvA фоторецептора, послуживший отправной точкой для их получения. Для этих белков рассматривались их структурные и динамические характеристики, которые бы обеспечивали большую эффективность фотопереключения между нефлуоресцентным и флуоресцентным состояниями.

Раздел 3.5 отведен под обсуждение работ 2021-2023 годов, использующих или рассматривающих результаты, полученные в данной диссертационной работе.

В заключении подводятся итоги проделанной работы. Особую ценность представляют рекомендации, содержащие информацию, полезную для дальнейшей работы над флуоресцентными белками на основе LOV доменов.

Рекомендации и выводы являются *новыми и оригинальными*. Положения, выносимые на защиту, полностью *обоснованы* в работе. Так как представленные результаты получены с применением современных расчетных методов, а также была произведена проверка точности воспроизведения экспериментальных данных для рассматриваемых систем, можно заключить, что они являются *достоверными и обоснованными*. Дополнительно достоверность подтверждается публикацией полученных результатов в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных WoS, Scopus, RCSI, и апробацией представленных результатов на 10 всероссийских и международных научных конференциях.

Диссертационная работа написана четко, логично, хорошо оформлена и обладает информативным иллюстративным материалом. Однако к диссертационной работе есть ряд *замечаний*:

1. Кажется сомнительным практическое применение 1-деазафлавинмононуклеотида в качестве хромофора, способствующего батохромному сдвигу максимума испускания, поскольку он обладает низким квантовым выходом флуоресценции (таблица 3.5 диссертации).
2. В проведенном исследовании (раздел 3.4) модели белков rsLOV1 и rsLOV2 получены из структуры дикого типа YtvA-LOV путем множественных мутаций, которые составляют почти 20% от всей белковой молекулы. Закономерно возникает вопрос, насколько полученные модели достоверно описывают свойства данных белков.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.4.4 – «Физическая химия» (по химическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Метелешко Юлия Игоревна заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.4 – «Физическая химия».

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук,  
ведущий научный сотрудник проблемной лаборатории космической  
биологии биологического факультета Федерального государственного

