

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

доктора физико-математических наук Ширшина Евгения Александровича
на диссертационную работу Ровнягиной Наталии Романовны
«Флуоресцентная спектроскопия фибриллярных наноструктур: взаимодействие
с флуоресцентным зондом тиофлавином Т и возможности в исследовании
кинетики агрегации», представленную на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.6. Оптика.

Диссертационная работа Ровнягиной Н.Р. посвящена комплексному экспериментальному и теоретическому исследованию фотофизических процессов, происходящих при взаимодействии флуоресцентного зонда тиофлавина Т (ThT) с белковыми системами — как с мономерами и олигомерами, так и с амилоидными фибриллярными наноструктурами. Основное внимание в работе уделено детальному анализу механизмов изменения фотофизических параметров ThT (интенсивности и времени жизни флуоресценции) при образовании им комплексов с сайтами связывания с разной специфичностью, а также разработке новых методов оптической визуализации на основе эффекта насыщения флуоресценции. Эти исследования имеют фундаментальное значение для понимания природы взаимодействия молекулярных роторов с биологическими макромолекулами и важны для совершенствования методов диагностики патологических состояний, связанных с белковой агрегацией.

Работа Ровнягиной Н.Р. выполнена в лаборатории лазерной биофотоники кафедры квантовой электроники физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Следует отметить, что Наталия Романовна начала активно заниматься научной работой ещё в период обучения в специалитете на четвертом курсе, проявив глубокий интерес к методам флуоресцентной спектроскопии и микроскопии. Её первые исследования были связаны с изучением процесса связывания тиофлавина Т с белковыми агрегатами, и анализом изменения фотофизических свойств ThT в результате данного процесса. В аспирантуре она сосредоточилась на применении ThT для анализа гетерогенных белковых систем, что и стало основой настоящей диссертации. Уже на ранних этапах работы она продемонстрировала не только уверенные навыки экспериментатора, но и способность осваивать и применять современные методы анализа, включая время-разрешенную флуоресцентную спектроскопию с фемто- и пикосекундным разрешением, гель-фильтрационную хроматографию, спектроскопию динамического светорассеяния и микроскопию анализа траекторий наночастиц. Постепенно её исследования переросли в системный подход, объединяющий фотофизические методы с анализом структурных изменений в процессе формирования фибриллярных наноструктур. За время обучения в аспирантуре Ровнягина Н.Р. проявила высокий уровень самостоятельности, целеустремлённость и глубокую вовлечённость в исследовательский процесс. Она успешно сдала все экзамены кандидатского минимума.

В диссертационной работе Ровнягиной Н.Р. впервые было впервые обнаружено и объяснено асинхронное изменение времени жизни и интенсивности флуоресценции ThT как при неспецифическом связывании с белками, так и в процессе фибриллообразования. Впервые было установлено, что такое асинхронное поведение фотофизических характеристик ThT связано с наличием сверхбыстрой компоненты (~ 1 пс), наблюдаемой у $>50\%$ молекул зонда при неспецифическом связывании ThT с глобулярными белками и их олиго-

мерами, вклад которой маскируется в измерениях с наносекундным разрешением. Также, в диссертационной работе Ровнягиной Н.Р. впервые было показано, что в растворе альбумина существуют как минимум две моды связывания ThT, связанные с присутствием мономерной и димерной фракций белка, причём константа связывания с димерами примерно в 7 раз выше. Также, в рамках диссертационной работы был разработан и апробирован новый метод молекулярно-специфической визуализации на основе эффекта насыщения флуоресценции с использованием стандартного конфокального микроскопа, позволяющий повысить контрастность изображений в гетерогенных системах. Результаты работы имеют существенное научное и практическое значение. Они углубляют понимание процессов формирования фотофизических характеристик ThT как молекулярного ротора и механизмов его взаимодействия с биологическими объектами, что важно для корректной интерпретации данных при использовании ThT в качестве сенсора амилоидных фибрилл. Разработанные методики и выявленные закономерности могут быть использованы для повышения точности и специфичности флуоресцентной диагностики агрегации белков, в том числе в гетерогенных биологических системах.

Результаты исследований Ровнягиной Н.Р. неоднократно докладывались на российских и международных конференциях и опубликованы в ведущих рецензируемых научных журналах. Работа представляет собой законченное, оригинальное исследование, выполненное на высоком научно-методическом уровне с использованием современного оборудования и корректных методов анализа данных.

Во время обучения на кафедре Ровнягина Н.Р. проявила высокий уровень профессиональной подготовки, глубокое понимание используемых физических методов и зрелый, ответственный подход к решению поставленных научных задач. Она обладает навыками анализа многопараметрических данных, умеет критически осмысливать полученные результаты и корректно формулировать выводы. Ею был разработан и успешно применён комплексный методологический подход, объединяющий методы стационарной и времязарезенной флуоресцентной спектроскопии, гель-фильтрационной хроматографии, спектроскопии динамического светорассеяния и микроскопии анализа траекторий наночастиц, для всестороннего исследования кинетики формирования фибриллярных наноструктур и взаимодействия зонда ThT с белковыми системами *in vitro*.

В процессе работы над диссертацией Ровнягина Н.Р. зарекомендовала себя как инициативный, мотивированный и ответственный исследователь, способный к самостоятельной постановке задач, планированию и проведению сложного эксперимента, а также к глубокому анализу и интерпретации полученных результатов. Хочется также отметить её доброжелательность, коммуникабельность и готовность к работе в коллективе.

Считаю, что диссертационная работа Ровнягиной Наталии Романовны «Флуоресцентная спектроскопия фибриллярных наноструктур: взаимодействие с флуоресцентным зондом тиофлавином Т и возможности в исследовании кинетики агрегации» выполнена на высоком научном уровне, соответствует специальности 1.3.6. Оптика и удовлетворяет всем требованиям «Положения о присуждении учёных степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», предъявляемым к кандидатским диссертациям. Рекомендую диссертационную работу Ровнягиной Наталии Романовны «Флуоресцентная спектроскопия фибриллярных наноструктур: взаимодействие с флуоресцентным зондом тиофлавином Т и возможности в исследовании кинетики агрегации» к защите

на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.6. Оптика.

Научный руководитель:

Ширшин Евгений Александрович,
доктор физико-математических наук

Место работы и должность:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», физический факультет, кафедра квантовой электроники, доцент

_____ Е.А. Ширшин

«27» ноября 2025 года

Адрес места работы:

119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 2
Телефон: +7 (495) 939-16-53
E-mail: shirshin@lid.phys.msu.ru

Специальность, по которой научным руководителем защищена докторская диссертация:

1.3.6. Оптика.

Подпись Ширшина Евгения Александровича УДОСТОВЕРЯЮ:

Учёный секретарь учёного совета
физического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова,
доктор физико-математических наук, доцент

_____ С.Ю. Стремоухов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Телефон: +7 (495) 939-16-82

E-mail: info.ff@org.msu.ru