

## ОТЗЫВ

на диссертацию Тевонян Лианы Лёваевны

«Флуоресцентные подходы обнаружения G4-структур ДНК в модельных системах»

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.3. – «Молекулярная биология».

**ФИО:** Касьяненко Нина Анатольевна

**Ученая степень:** Доктор физико-математических наук

**Год присуждения ученой степени и научная специальность, по которой присуждена**

**ученая степень:** 2003 год, доктор физико-математических наук 02.00.06

«Высокомолекулярные соединения»

**Ученое звание:** Профессор

**Место работы (полное название организации в соответствии с Уставом) Санкт-Петербургский государственный университет СПбГУ. Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034**

**Подразделение:** Кафедра молекулярной биофизики и физики полимеров

**Должность:** Профессор

**Контактная информация, +7 (812) 328 20 00, [n.kasyanenko@spbu.ru](mailto:n.kasyanenko@spbu.ru)**

Диссертационная работа Лианы Лёваевны Тевонян посвящена разработке и апробации флуоресцентных методов, которые позволяют обнаруживать G4-структуры ДНК в модельных системах и изучать их физико-химические свойства, а также конформационные особенности. Актуальность исследования, выполненного Тевонян Л.Л., несомненна. Известно, что богатые гуанином области олигонуклеотидов способны сворачиваться в четырехцепочечные структуры (G-квадруплексы, G4). Было показано, что эти структуры G4 формируются *in vivo* и играют решающую роль в клеточных процессах. Последние исследования показали, что число таких G4 структур в геноме человека может достигать десятки тысяч и даже более. Анализ формирования и конформационных особенностей таких структур в системах *in vivo* является весьма сложной задачей. Хотя точная биологическая роль, которую играют G4 структуры, все еще неясна, в настоящее время общепризнано, что в некоторых случаях образование G4 может быть вредным для определенных биологических процессов. В частности, их формирование может привести к повреждению ДНК. В связи с этим обнаружение таких структур может быть полезно с точки зрения диагностики различных патологий.

В ряде работ было показано, что использование флуоресцентных зондов может помочь идентифицировать G4 в ядрах живых и фиксированных клеток. В этом контексте разработка новых флуоресцентных методов детекции G4 является весьма актуальной задачей. Этим вопросам, в частности, посвящена кандидатская диссертация Л.Л. Тевонян.

В своей диссертационной работе Тевонян Л.Л. уделяет особое внимание исследованию фотофизических свойств G4-структур. В работе изучена собственная флуоресценция природных нуклеотидов и G4-структур. Полученные результаты расширяют наши представления о фотофизических свойствах ДНК и могут быть использованы для обнаружения и изучения неканонических форм ДНК. В диссертации также проведен анализ флуоресцентных характеристик специфичных к ДНК низкомолекулярных лигандов. Следует отметить большой массив экспериментальных данных и развернутый анализ полученных в диссертации экспериментальных результатов.

Достоверность полученных в диссертационной работе Тевонян Л.Л. данных не вызывает сомнений, поскольку они отличаются согласованностью, непротиворечивостью, хорошим соответствием с существующими в настоящее время представлениями о структуре и свойствах подобных систем. Использование разнообразных методов исследования и проведение независимых повторных экспериментов свидетельствуют о высокой степени надежности полученных данных. В работе применялись как классические, так и современные молекулярно-биологические и биофизические методы, что позволило всесторонне изучить флуоресцентные свойства G4-структур. Совокупность биологических повторов и тщательная обработка экспериментальных данных подчеркивают методологическую точность и обоснованность сделанных выводов.

Практическая значимость диссертационной работы также очевидна, так как поставленные и решенные в работе задачи связаны с решением ключевых вопросов в области молекулярной биологии, а также они могут способствовать внедрению новых способов диагностики неканонических структур нуклеиновых кислот *in vitro* и *in vivo*.

Структура диссертации традиционна. Она состоит из Введения, пяти глав, содержащих обзор литературы по теме исследования, описание используемых в диссертационной работе материалов и методов, трех глав, посвященных описанию и анализу оригинальных экспериментальных данных, Выводов, Заключения и Списка литературы, который включает 123 источника.

В работе впервые проведено систематическое исследование флуоресцентных свойств G-квадруплексных структур ДНК, сформированных с использованием различных последовательностей, выявлены важные связи между конформационными и флуоресцентными характеристиками. Впервые подробно были исследованы флуоресцентные свойства природных нуклеотидов при изменении pH. Предложено рассматривать протонирование как химическую модификацию гуанина, усиливающую внутреннюю флуоресценцию в зависимости от вторичной структуры ДНК.

При проведении исследования был использован ряд классических ДНК-лигандов, а также были охарактеризованы новые флуоресцентные красители, проявляющие специфичность к G4-структурам. Характеристика связывания используемых лигандов с квадруплексной структурой в составе дуплекса ДНК открывает новые перспективы для исследования G4 структур в составе двойной спирали в условиях, приближенных к биологическим. Предложенные методы и полученные результаты значительно расширяют

арсенал инструментов для исследования конформаций нуклеиновых кислот, что позволяет более точно и эффективно анализировать их поведение в биологических системах. Работа Тевонян Л.Л. имеет значительный потенциал для дальнейшего развития научных исследований в данной области.

В выводах автор подводит итоги исследования, обобщая полученные результаты, которые полностью соответствуют поставленным задачам.

При знакомстве с диссертацией возникает ряд замечаний и вопросов.

1. Не всегда подписи к рисункам содержат всю необходимую информацию о приведенных данных. В частности, отсутствует указание длины волны, при которой проводится анализ зависимостей интенсивности флуоресценции и кругового дихроизма изучаемых объектов от различных факторов (см., например, рис 11-13 и др.).
2. Использовали ли поддерживающий электролит (например, NaCl) при приготовлении систем? Как можно охарактеризовать их ионный состав? В частности, природная тимусная ДНК фирмы Sigma Aldrich содержит в качестве собственных противоионов ионы Na<sup>+</sup>.
3. Как при работе в области низких значений pH, приводящих к протонированию оснований ДНК, проверяли сохранение структуры G4? Ведь протонирование влечет за собой изменение спектральных свойств изучаемых структур, так что на изменения, фиксируемые на опыте (см, например, рис. 27), могут оказать влияние и они, и конформационные изменения квадруплекса.

Высказанные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы Тевонян Л.Л. , которая представляет собой завершеного и тщательно выполненного исследования. Основные результаты диссертационной работы Лианы Лёваевны Тевонян отражены в трех публикациях в международных рецензируемых журналах и семи докладах на международных конференциях, что свидетельствует о высоком уровне признания работы в научном сообществе. Автореферат диссертации полностью отражает основное содержание работы.

Считаю, что диссертационная работа Лианы Лёваевны Тевонян «Флуоресцентные подходы обнаружения G4-структур ДНК в модельных системах» соответствует требованиям положения о Присуждении ученых степеней в Московском физико-техническом институте и может быть рекомендована к защите, а соискатель Тевонян Л.Л. заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

3 июля 2024 г. \_\_\_\_\_ Касьяненко Нина Анатольевна

Личную подпись  
И.О. начальника отдела  
И.И. Константинова

03.07.2024

Документ подготовлен в порядке исполнения государственного задания

Текст документа размещен в открытом доступе на сайте СПбГУ по адресу <http://spbu.ru/science/expert.htm>