

## О Т З Ы В

на автореферат диссертации **Ларионовой Марины Дмитриевны** “Новые изоформы люциферазы из копеподы *Metridia Longa*: свойства и применение”, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 - Биофизика.

Диссертация Ларионовой М.Д. посвящена изучению новых изоформ люцифераз копепод и их возможному использованию в анализах *in vitro* и *in vivo* в качестве репортерных групп. Актуальность данных исследований не вызывает сомнения, так как в настоящее время развитие методов неинвазивной визуализации молекулярных процессов *in vivo* является одним из важнейших направлений мировой науки. Разработка технологий биоимиджинга с использованием флуоресцентных белков и красителей или репортерных систем на основе биолюминесцентных белков очень важна для проведения фундаментальных и прикладных исследований в медицине, фармакологии, биохимии и нанофотонике.

Автором были решены следующие научные задачи: впервые разработана процедура получения люцифераз копепод *M. longa* и *G. princeps* в клетках насекомых; впервые разработана технология получения нативной формы высокоочищенных белков из культуральной среды с последующим исследованием их физико-химических, биолюминесцентных и биохимических свойств; впервые проведена идентификация аминокислотных остатков в субстрат-связывающем сайте люцифераз *M. longa* путем сравнения нативной изоформы MLuc7 и полученных мутантов; показана пригодность новой изоформы MLuc7 в качестве секретлируемого репортера в клетках млекопитающих *in vivo* и белка-партнера при конструировании бифункциональных гибридных белков для диагностики *in vitro* на примере создания гибридного белка с одноцепочечным антителом 14D5a к вирусу клещевого энцефалита.

Ларионовой М.Д. впервые изучены новые изоформы люцифераз MLuc2 и MLuc7, а также GrLuc, проведено сравнение активности этих трех белков; показано, что свойства люцифераз, полученных в клетках насекомых, не отличаются от свойств люцифераз, секретлируемых клетками млекопитающих, что очень важно для дальнейших исследований. Следует отметить сложность и большой объем экспериментальной работы, выполненной автором, высокий научный уровень, соответствующий мировым стандартам, использование современных методов исследования. Материал, изложенный в автореферате, достаточно полно представлен в опубликованных работах: в 4-х статьях в зарубежных журналах и 6 публикациях в сборниках материалов научных международных и всероссийских форумов.

В качестве замечания по тексту автореферата следует отметить пропуск слов в предложениях, что мешает понять автора (в качестве примера, стр. 12: а) «..., ... новая изоформа MLuc7, полученная при бакуловирусной экспрессии, обладала свойствами, близкими к свойствам культуральной среды клеток НЕК293 (Рис. 4А, Б)» вместо «..., ... новая изоформа MLuc7, полученная при бакуловирусной экспрессии, обладала свойствами, близкими к свойствам **репортерного белка** из культуральной среды клеток НЕК293 (Рис. 4А, Б)»; б) «MLuc2-люцифераза обладала высокой активностью (Табл. 1), при оптимальных условиях превышающей MLuc7, ....» вместо «MLuc2-люцифераза обладала высокой активностью (Табл. 1), при оптимальных условиях превышающей **активность** MLuc7, ....»), а также использование «сленговых» выражений: «остатки MLuc7» вместо «остатков **аминокислот в последовательности MLuc7**» (стр. 16, предложение 1). Следует отметить, что данное замечание не умаляет научной ценности выполненной работы.

Результаты, полученные в работе, основательны, их достоверность не вызывает сомнений, выводы убедительны и представляют собой серьезный вклад в современную науку. Работа Ларионовой М.Д. является законченным исследованием, имеющим существенное значение для развития исследований в области биофизики, биохимии, фотобиологии и медицины.


Автореферат диссертации удовлетворяет всем требованиям ВАК, предъявляемым к авторефератам диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

По объему, уровню выполнения, новизне и практической значимости диссертационная работа Ларионовой М.Д. полностью отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 - "Биофизика", а ее автор заслуживает присуждения данной ученой степени.

Старший научный сотрудник лаборатории кинетики и механизмов ферментативных и каталитических реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, доктор химических наук

 /О.В. Демина/



ответственноручную подпись  
научника   
статусом подтверждаю 