

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Смирновой Дарьи Васильевны «Гибридные белки и конъюгаты на основе люциферазы светляков *Luciola mingrelica* и их биоаналитическое применение», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.04 – биохимия, 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология)

Диссертационная работа Д.В.Смирновой является актуальной не только в областях биохимии и биотехнологии, а также в областях генной инженерии и биоаналитической химии.

В работе впервые получены плазмиды, кодирующие гибридные белки люцифераза-биотин-связывающий домен и люцифераза-стрептавидин с использованием гена высокоактивного и термостабильного мутанта люциферазы светляков *Luciola mingrelica*. Впервые получен гибридный белок люциферазы-биотин-связывающий домен, биотинилированный *in vivo*, обладающий высокой биолуминисцентной активностью и способностью связывать стрептавидин. Показана эффективность применения полученных гибридных белков в биоспецифическом анализе на основе биотин-стрептавидиновых взаимодействий на примере гетерогенного иммуноанализа клеток *Salmonella* и гибридизационного анализа специфических фрагментов ДНК клеток *E.coli*. Разработан высокоэффективный метод получения конъюгатов люциферазы с прогестероном и антител к прогестерону с красителем Alexa Fluor 610-х, обладающих высокой активностью и сохраняющих биохимические и физико-химические свойства исходных реагентов. Оптимизирован состав этих конъюгатов для регистрации высокоэффективного биолуминисцентного резонансного переноса энергии, в том числе путем получения нового термостабильного мутанта люциферазы светляков с максимумом биолуминисценции при 550 нм, методом генетической инженерии.

Вышеуказанные результаты позволили создать высокоэффективные и экспрессные биоаналитические системы на основе биолуминисцентного резонансного переноса энергии от люциферазы и её мутантных форм, в качестве донора, на флуоресцентные красители нового поколения, в качестве акцепторов. Это открывает новые перспективы использования люциферазы для скрининга различных анализов с высокой чувствительностью, специфичностью и производительностью биоанализа. На этой основе разработан высокочувствительный метод гомогенного анализа прогестерона, отличающийся от известного гетерогенного метода иммуноферментного анализа экспрессностью и меньшей трудоемкостью.

Результаты работы были доложены и обсуждены на 10 международных и российских конференциях, опубликованы в 13 работах, в том числе в трех

статьях в реферируемых научных журналах из Перечня ВАК РФ, четко сформулированы в шести выводах.

Структура автореферата логически правильная, выводы соответствуют защищаемым положениям, целям и задачам диссертационной работы. Количество и качество публикаций по теме диссертации соответствует требованиям ВАК РФ. Никаких серьезных замечаний по поводу оформления и содержания автореферата диссертационной работы, кроме мелких опечаток, нет.

Судя по автореферату, считаю, что диссертационная работа Дарьи Васильевны Смирновой является законченным научным трудом, выполнена на высоком научном, методологическом и методическом уровне, соответствует всем требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.04 – биохимия и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология).

Зам. директора по научной работе
ФГБУН ИБПК СО РАН, д.б.н. профессор

Б.М.Кершенгольц

Подпись Б.М.Кершенгольца

Специалист по кадрам

Спирина В.И.

Почтовый адрес: 677980 г.Якутск, пр.Ленина, 41 ИБПК СО РАН.
Тел. 8-(4112)-33-57-84; моб.тел. +7-914-235-11-78
e-mail: kerschen@mail.ru

29.05.2015

