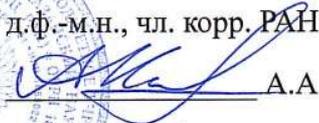


УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФИЦ КазНЦ РАН,
д.ф.-м.н., чл. корр. РАН


А.А. Калачев

« 5 » февраля 2026 г



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального Государственного Бюджетного Учреждения Науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (ФИЦ КазНЦ РАН) на диссертацию Санниковой Натальи Эдуардовны «Развитие методов импульсной ЭПР-спектроскопии с фотовозбуждением для исследования комплексов биомолекул с фотоактивными лигандами», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 - «химическая физика горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества»

Диссертационная работа Санниковой Н. Э. посвящена актуальной задаче: развитию и оптимизации импульсных методов ЭПР-спектроскопии с фотовозбуждением для исследования пространственной структуры комплексов биомолекул с фотоактивными лигандами, перспективными для применения в фотодинамической терапии (ФДТ) рака. Высокоинформативным экспериментальным методом исследования структуры аморфных материалов и биомолекул в нанометровом диапазоне является метод импульсного электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) в комбинации с методом направленного введения спиновых меток. Использование фотовозбужденного триплетного состояния в качестве спиновой метки представляет собой принципиально новый подход в ЭПР-спектроскопии. Такой подход открывает новые перспективы для изучения структуры комплексов биомолекул, связанных с фотоактивными лигандами, что имеет особую значимость для разработки систем, используемых в (ФДТ).

Новизна исследования заключается в развитии методологии импульсной светоиндуцированной ЭПР-спектроскопии для структурного анализа биомолекулярных комплексов с фотосенсибилизаторами. В работе предложены и реализованы новые экспериментальные ЭПР-подходы к исследованию структурной организации комплексов фотосенсибилизаторов с G-квадруплексной ДНК и транспортным белком — альбумином. Выявлены фотоиндуцированные структурные перестройки в комплексе теломерной G-квадруплексной ДНК с катионным порфирином, что вносит вклад в понимание механизмов

взаимодействия фотосенсибилизаторов с неканоническими формами ДНК. Значимым фундаментальным результатом является построение масштабной экспериментально валидированной карты сайтов связывания тетрапиррольных фотосенсибилизаторов различного зарядового состояния с человеческим сывороточным альбумином. Установленные закономерности локализации лигандов в зависимости от их заряда, геометрии и размера углубляют понимание молекулярных факторов, определяющих селективность связывания и распределение фотосенсибилизаторов в биологических системах. Дополнительно в работе развита методология двойного электрон-электронного резонанса (ДЭЭР) с фотовозбуждением за счёт применения блоков динамической развязки и интегрирования множественных эхо-сигналов. Установлены факторы, влияющие на электронную спиновую декогеренцию в системах с фотовозбуждёнными триплетными состояниями, что имеет фундаментальное значение для дальнейшего развития высокочувствительных ЭПР-методов.

Практическая значимость работы определяется возможностью использования полученных результатов для рационального дизайна фотосенсибилизаторов и прогнозирования их взаимодействия с биомолекулами. Экспериментально подтверждённая карта сайтов связывания тетрапиррольных соединений с альбумином может быть использована для оценки потенциальных лекарственных взаимодействий. Разработанная методика повышения чувствительности импульсной светоиндуцированной ЭПР-спектроскопии с применением блоков динамической развязки расширяет возможности исследования биомолекулярных комплексов с фотоактивными лигандами, особенно при работе с образцами низкой концентрации. Полученные научные результаты являются передовыми в данной области и способствуют дальнейшему развитию структурных исследований методами ЭПР в химической физике и биологии, направленных на создание новых эффективных терапевтических препаратов.

Достоверность полученных в диссертационной работе результатов не вызывает сомнений, поскольку они базируются на большом объеме экспериментальных данных, в большинстве случаев, подтвержденных также моделированием и теоретическими расчетами. Кроме того, по теме диссертации автором опубликованы четыре статьи в высокорейтинговых журналах. Материалы диссертации также неоднократно докладывались на международных конференциях.

Диссертационная работа Санниковой Н. Э. изложена на 120 страницах машинописного текста, содержит 43 рисунка и 7 таблиц. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора и трех глав, выводов, списка сокращений, благодарностей, списка цитируемой литературы, состоящего из 275 наименований.

Во Введении обосновывается актуальность работы, характеризуется степень разработанности темы, формулируются цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, приводятся положения, выносимые на защиту, обосновывается достоверность полученных результатов, описывается личный вклад соискателя, а также представлены сведения об апробации работы.

Первая глава посвящена литературному обзору. В ней приводится теоретическое описание методов фотоиндуцированной ЭПР-спектроскопии и обсуждаются их ключевые преимущества для изучения структуры биомолекулярных комплексов по сравнению с другими структурными методами. Представлен детальный обзор и анализ различных типов спиновых меток, используемых в двойном электрон-электронном резонансе (ДЭЭР), при этом особое внимание уделяется новому классу меток на основе фотовозбуждённых триплетных состояний. Также изложены основы фотовозбуждённой импульсной ДЭЭР-спектроскопии. В частности, приведён гамильтониан пары спинов, связанных дипольным взаимодействием, рассмотрены ключевые экспериментальные методы с указанием их особенностей, а также подходы к анализу получаемых временных зависимостей. Отдельно обсуждается проблема ограничения частоты экспериментов и приведена потенциально эффективная стратегия её решения, основанная на применении методик многократного рефокусирования эхо-сигналов. Кроме того, в главе рассмотрены основы фотодинамической терапии и методы повышения её эффективности. Описаны два перспективных направления в разработке противоопухолевых терапий: использование G-квадруплексов ДНК в качестве терапевтической мишени и применение человеческого сывороточного альбумина как носителя для доставки препаратов.

Во второй главе продемонстрирован новый подход к исследованию структурной организации G-квадруплексной ДНК и её фотоиндуцированных перестроек, основанный на импульсной ДЭЭР с фотовозбуждёнными триплетными состояниями в качестве спиновых меток. На основе данных ДЭЭР-спектроскопии для дважды меченой производной NTel-22 (G3;G15) показано существование двух топологий квадруплекса — антипараллельной и параллельной. Результаты экспериментов ДЭЭР-спектроскопии также указывают на то, что связывание NTel-22 с TMRyP4 не вызывает конформационных переходов G-квадруплексной структуры ДНК. Кроме того, метод фотоиндуцированной ЭПР-спектроскопии позволил экспериментально подтвердить один из ранее предсказанных сайтов связывания лиганда TMRyP4 (участок ART2) с антипараллельной формой квадруплекса. В главе приведены результаты исследования структурных изменений, индуцированных фотооблучением

комплекса HTeI-22/TMPyP4. Показано, что фотолиз приводит к значительной дестабилизации G-квадруплексной структуры и увеличению доли димерных форм ДНК.

В третьей главе продемонстрирован потенциал ДЭЭР-спектроскопии как высокоинформативного метода для исследования взаимодействия фотоактивных лигандов различной природы с человеческим сывороточным альбумином. На основе полученных данных впервые построена экспериментально подтверждённая карта сайтов связывания указанных лигандов с альбумином. Установлено, что для анионных соединений реализуется связывание как в гем-сайте, так и в сайте Садлоу I, при этом относительная аффинность к данным участкам зависит от молекулярной структуры лиганда. Показано, что основной сайт связывания нейтрального порфирина с альбумином локализован вблизи гем-сайта, наряду с дополнительными участками связывания вблизи сайта Садлоу II и в области, прилегающей к участку связывания жирных кислот ГА6. Впервые продемонстрирована локализация катионных порфиринов на поверхности альбумина в нескольких участках. Установлено, что независимо от длины периферических заместителей их доминирующий сайт связывания расположен в субдомене IV.

В четвертой главе представлены результаты исследования эффективности и ограничений подхода к сокращению времени накопления сигнала, основанного на многократном детектировании спинового эха с использованием последовательностей динамической развязки (последовательности типа Карра–Парселла–Мейбума–Гилл, КПМГ) в экспериментах ДЭЭР-спектроскопии с фотовозбуждёнными триплетными состояниями. Проведено сравнение эффективности применения блоков КПМГ для различных объектов исследования с фотовозбуждёнными триплетными состояниями. Установлено, что расщепление в нулевом магнитном поле триплетных состояний и диполь-дипольное взаимодействие спиновой пары вносят вклад в электронную спиновую декогеренцию при использовании блоков динамической развязки. Показано, что эффективность предложенного подхода критически зависит от стабильности мощности лазерного импульса, причём негативное влияние флуктуаций мощности лазера наиболее выражено в системах с интенсивным фотоиндуцированным ЭПР-сигналом.

Таким образом, результаты диссертации полностью обоснованы и подтверждены приведенными в работе экспериментальными и теоретическими выкладками. К работе нет замечаний принципиального характера, которые бы повлияли на общую положительную оценку диссертации. Тем не менее, при прочтении возникло несколько вопросов и замечаний:

- в тексте диссертации приведено множество различных спектров ЭПР и на многих рисунках в качестве подписи к осям ординат написано – «ЭПР сигнал», хотя подразумевается интенсивность сигнала ЭПР или интенсивность сигнала спинового эха. Считаю, что такая запись некорректна.

- в тексте диссертации можно встретить множество жаргонных выражений, например, таких как «дипольная ЭПР-спектроскопия». Хотя существует принятое название такое как спектроскопия двойного электрон-электронного резонанса (ДЭЭР-спектроскопия).

- на стр. 30 написано, что «можно повысить добротность резонатора, что позволяет использовать более высокую мощность микроволнового излучения, сократить длительность импульсов и повысить чувствительность эксперимента». Но при увеличении добротности резонатора увеличивается «мертвое» время наблюдения сигнала и приведет к уменьшению чувствительности.

Представленные замечания не снижают ценности и не затрагивают основные результаты представленной диссертационной работы. Работа соответствует п. 1 «Атомно-молекулярная структура химических частиц и веществ», и п.4 «спиновая динамика и спиновая химия; экспериментальные методы исследования химической, энергетической и спиновой динамики» паспорта специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества. Текст автореферата диссертации по своей структуре и полноте полностью соответствует тексту диссертации.

Диссертационная работа **Санниковой Натальи Эдуардовны «Развитие методов импульсной ЭПР-спектроскопии с фотовозбуждением для исследования комплексов биомолекул с фотоактивными лигандами»** полностью соответствует пп. 9-14 «Положения о присуждении учетных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Санникова Наталья Эдуардовна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.17 Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества. Диссертационная работа была обсуждена 2 февраля 2026 г. на семинаре лаборатории спиновой физики и спиновой химии Казанского физико-технического института им Е.К. Завойского - обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (КФТИ – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН). Отзыв на диссертационную работу заслушан и

утверждён на Ученом совете КФТИ – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН (протокол №3 от 4 февраля 2026 г.).

Отзыв подготовил:

кандидат физико-математических наук

(специальность 01.04.11 - физика магнитных явлений)

старший научный сотрудник КФТИ – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН

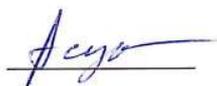
420029, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 10/7

телефон: +7(987)2709992

E-mail: ansukhanov@mail.ru

Суханов Андрей Анатольевич

Я, Суханов Андрей Анатольевич, даю своё согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета 24.1.150.01, и их дальнейшую обработку в соответствии с требованиями Минобрнауки РФ.



Суханов А. А.

«5» февраля 2026 г

Руководитель КФТИ-обособленного структурного
подразделения ФИЦ КазНЦ РАН



/С.М. Хантимеров