

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Иоанны Алексеевны Горбуновой «Исследование фотофизических свойств молекул NADH в растворах методами фемтосекундной поляризационной лазерной спектроскопии», представленную на соискание учёной степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.3.6 – Оптика

В диссертационной работе Иоанны Алексеевны Горбуновой методами время-разрешенной лазерной спектроскопии изучался интересный объект, молекула NADH - восстановленный никотинамид-аденин-динуклеотида. NADH присутствует во всех живых клетках, участвует в важных химических процессах. NADH поглощает свет на длинах волн 250 и 350нм, а в окисленной форме (NAD<sup>+</sup>) – только в полосе 250нм. В диссертации оптические свойства молекулы исследовались в жидкой среде, с использованием оптической спектроскопии накачка-зондирование и многофотонной время-разрешенной флуоресценции. В подобных исследованиях пока не решены задачи о механизмах затухания и анизотропии флуоресценции и поглощения NADH и его производных. Ответы на них важны для картины связей оптического сигнала от NADH с биохимией клетки и, в перспективе, применений в неинвазивной диагностике живых клеток. Нацеленность соискателя на решение этих задач, как представляется мне, вполне обуславливает актуальность темы диссертации.

Диссертация получилась объёмной: 168 страниц, пять глав, список литературы из 170 источников, три приложения. Содержание автореферата и диссертации согласовано.

Первая глава - это обзор литературы по методам время-разрешенной лазерной спектроскопии и применениям в исследованиях многоатомных биологических молекул, в том числе NADH.

Во второй главе представлены новые результаты исследования NADH в растворах различной вязкости и полярности при двухфотонном возбуждении фемтосекундными лазерными импульсами. Автору NADH удалось связать природу двух времен затухания флуоресценции с *cis* и *trans* конформацией молекулы, определить компоненты тензора двухфотонного возбуждения и обнаружить два канала двухфотонного возбуждения, соответствующих разным компонентам тензора.

В третьей главе в измерениях квантового выхода флуоресценции NADH в водно-спиртовых растворах различной вязкости удалось разделить быстрые и медленные каналы безызлучательной релаксации возбужденного состояния NADH и вклады квантовых выходов этих каналов в уменьшение населенности состояния.

В четвертой главе исследовано взаимодействие NADH с алкоголь-дегидрогеназой (ADH). Впервые установлено: 1) измеренное время затухания

флуоресценции комплекса NADH-ADH,  $\tau_4 = 4.5$  нс, указывает на единственную trans-конформацию NADH в сайте связывания ADH, 2) увеличение этого времени происходит за счет изменения разделения зарядов в никотинамиде в условиях аполярного сайта связывания ADH, 3) время деполяризации флуоресценции комплекса составляет  $\tau_{bv} = 0.89$  нс.

В пятой главе представлены результаты разработки метода поляризационно-модуляционной спектроскопии накачка-зондирование и его апробации в измерениях анизотропной релаксации возбужденного состояния NADH в растворах. За счет балансной системы детектирования были эффективно подавлены ВЧ шумы лазерного излучения и эффекты тепловой линзы, что существенно увеличило соотношение сигнал/шум. Это и позволило исследовать быстрые релаксационные процессы в возбужденных состояниях многоатомных молекул.

Полученные автором новые результаты могут найти применения в исследованиях стереохимии окислительно-восстановительных реакций с участием NADH, генерации активных форм кислорода в окислительно-восстановительных реакциях, фотоизомеризации и фотофрагментации молекул NADH в живых клетках.

По теме диссертации вышло 9 статей в индексируемых в базе Web of Science и Scopus изданиях и на 12-ти всероссийских и международных конференциях сделаны доклады.

#### Вопросы и замечания

При чтении диссертации возник ряд вопросов и замечаний, не меняющих, в целом, положительной оценки работы. Часть приведена ниже:

1. стр.6, последний абзац. Неудачная, на мой взгляд, формулировка цели, по сути совпадающая с названием диссертации. Процесс, конечно, может быть целью (частично, смысл жизни в ней самой), но от диссертации по физ.-мат. наукам ожидается конкретная формулировка. Возможно, стоило бы сказать про необходимость прояснения механизмов затухания, анизотропии флуоресценции и поглощения NADH (и его производных?), важных для картины связей этих процессов с биохимией клетки.

2. стр.8 и 9, положение 5 и новизна 6. Правильней говорить об удельной энергии импульса возбуждения (поделить на объем, в котором упомянутый наноДжоуль поглощается). Какова была удельная энергия импульса?

3. стр.28. Чем обусловлен выбор угла в  $54.7^\circ$ , который кое-где в диссертации называется также «магическим», т.е. сказочным, если по-русски?

4. стр.54 «время затухания флуоресценции пропорционально вязкости раствора:...»

Слева и справа не совпадают размерности. Аргументы синусов должны быть безразмерными. Как вообще получился синус при линейной связи с вязкостью

5. стр.68, Таблица 1 и стр.74. Зачем введено два весовых коэффициента, раз их сумма равна 1? Избыточность запутывает, достаточно одного коэффициента. Если процессов  $n$ , то весовых коэффициентов  $n-1$ .

### Заключение

Диссертационная работа Иоанны Алексеевны Горбуновой «Исследование фотофизических свойств молекул NADH в растворах методами фемтосекундной поляризационной лазерной спектроскопии» является законченным научным исследованием в данной тематике, выполненным на высоком профессиональном уровне. Считаю, что диссертационная работа «Исследование фотофизических свойств молекул NADH в растворах методами фемтосекундной поляризационной лазерной спектроскопии» отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.5 "Оптика" согласно Положению о присуждении ученых степеней в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Физико-техническом институте им. А. Ф. Иоффе Российской академии наук, а ее автор И.А. Горбунова заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата физико-математических наук.

**Александр Витальевич Анкудинов,**

Доктор физико-математических наук по специальности 01.04.01 –«Приборы и методы экспериментальной физики», ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических свойств полупроводников, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе Российской академии наук», г. Санкт-Петербург.

« 28» сентября 2023 г.

\_\_\_\_\_ А.В. Анкудинов

Адрес: 194021, г. Санкт-Петербург,

Ул. Политехническая, д. 26

Тел.: (812)297-2245, факс: (812) 297-1017

моб.т. 8-931-362-43-17,

e-mail: alexander.ankudinov@mail.ioffe.ru; alex\_ank@mail.ru