

Отзыв официального оппонента на диссертацию

Тютяева Евгения Владимировича

«Исследование физико-химических свойств каротиноидов при действии температуры и изменения генетического профиля клетки» диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03. 01. 02 — «Биофизика»

Актуальность темы

Актуальность избранной диссертантом темы не вызывает сомнений. Предметом исследования диссертационной работы, является изменение физико-химических характеристик каротиноидов в зависимости от действия температуры и изменения генетического профиля клетки. Вопросы взаимодействия каротиноидов с их микроокружением (белки, липиды) и изменения их конформации под влиянием последних остаются важными для исследования, поскольку от изменения конформации, качественного и количественного состава в разных каротиноидных пулах клетки зависит её метаболизм, эффективность протекания первичных процессов фотосинтеза и др. Это дает основание утверждать, что научная проблема, сформулированная в диссертации — роли изменения физико-химических характеристик каротиноидов под действием температуры, а также манипуляций над геномом клетки является актуальной. Решение указанной проблемы имеет важное значение для биофизики фотосинтезирующей клетки, поскольку установив определенные закономерности между конформацией каротиноидов, флуоресценцией хлорофилла и фазовым состоянием липидных мембран можно делать прогнозы измеряя всего лишь один показатель.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Автор достаточно корректно использует известные научные методы

обоснования полученных результатов и выводов. Диссертантом изучены и критически анализируются известные достижения и теоретические положения других авторов по вопросам роли каротиноидов для фотосинтетической клетки и изменения их качественного и количественного состава в зависимости от действия факторов внешней среды. Исходя из материалов проанализированных автором в обзоре литературы, вклад каротиноидов в процессы диссипации/аккумуляции солнечной энергии очень высок. Они поддерживают тонкий баланс между этими процессами, что позволяет клетке эффективно адаптироваться и приспосабливаться к различным условиям среды обитания. Не стоит забывать и о том, что эти пигменты принимают и участие в поддержании микровязкости как тилакоидной, так и других типов липидных мембран. Список использованной литературы содержит 160 наименований, среди которых подавляющее большинство иностранных источников.

Для анализа конформации каротиноидов автором используются современные методики (ИК-Фурье, КР-спектроскопия в сочетании с абсорбционной спектроскопией), которые позволяют выявить закономерности в качественном и количественном их составе.

Для подтверждения теоретических положений автором проводятся экспериментальные исследования, целью которых является установление связи между флуоресценцией хлорофилла, конформацией каротиноидов и фазовым состоянием липидов мембран. Весьма интересной представилась идея о том, что в клетках цианобактерий с отсутствием фотосистемы 2 меняется количественный состав каротиноидов и автор объясняет это изменением метаболизма клетки и переходом ее на получение энергии путем окисления органического субстрата. Однако, в работах Rahimberdieva et al. 2010, говорится о том, что в подобном мутанте $\Delta PSII$ содержание каротиноидов напротив снижается, на что автор отвечает, что это может быть связано с тем, что каротиноиды не полностью экстрагировались из клеток и соответственно дали такие показатели.

Обоснованность результатов, выдвинутых соискателем, основывается на

согласованности данных эксперимента и научных выводов.

Достоверность экспериментальных данных обеспечивается использованием современных средств и методов проведения исследований.

Оценка новизны и достоверности

В качестве новых научных результатов диссертантом выдвинуты положения:

1. У мутанта *ΔPSII* содержание каротиноидов увеличено и молекулы в клетке распределены более равномерно, чем в диком типе;

2. В фотосинтетических системах мутанта *ΔOCP* и дикого типа обнаружены изменения конформации каротиноидов и хлорофилла: у хлорофилла возрастает время пребывания в возбужденном состоянии, а у каротиноидов увеличивается степень делокализации π -электронов;

3. Изменение жирнокислотного состава липидов мембраны, вызванное активацией фермента десатуразы ЖК у дикого типа цианобактерий приводит к делокализации π -электрона в полиеновой цепочке каротиноидов как в фотосинтетических системах, так и в мембране;

4. В клетках листьев растений функционирование фотосистем зависит от вязкости тилакоидной мембраны, что важно для адаптации растения к действию температур;

5. У генетически модифицированных гибридов и линий пигменты ФС1 и 2 отличаются по составу и конформации: у гибридов меняется конформация каротиноидов и не меняется состав ССК, а у линий меняется состав ССК.

В целом, результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями в отрасли биологических наук. Однако, на мой взгляд, требует более убедительных доказательств: вывод соискателя о «... функционирование фотосистем зависит от вязкости тилакоидной мембраны» поскольку данных об измеренной вязкости мембран в работе отсутствует.

Достоверность теоретических результатов работы подтверждается экспериментальными данными, представленными в известных работах

Grudzinski W. et al. 2016, Gruszecki W.I. et al. 2005, 2009 и др.

Основные результаты диссертации опубликованы в 16 печатных работах, они неоднократно обсуждались на различных конференциях и симпозиумах и получили одобрение ведущих специалистов.

Замечания по диссертационной работе в целом

1. В исследованиях не нашел отражение вопрос конформации каротиноидов в главе 3.3.1.

2. Вызывает сомнение первый вывод о том, что в мутанте каротиноиды распределены равномернее, чем в диком типе, поскольку в основу не положены критерии, по которым автор сделал подобный вывод;

3. Недостаточно обосновано заключение о том, что интенсивность ЗФ хлорофилла коррелирует с температурой фазового перехода липидов мембран (гл.3.3.1);

4. Недостаточно четко понятно из экспериментальной части исследования, почему автор, объединяя все пулы каротиноидов (мембранный, белково-связанный, свободный) при интерпретации общей картины, говорит об изменении жирнокислотного состава каротиноидов в тилакоидной мембране цианобактерий, где должно содержаться всего лишь 15% от общего количества каротиноидов клетки;

5. Некоторые результаты носят описательный характер (стр. 115-118, 125-128) и без особого ущерба могут быть сокращены.

Отмеченные недостатки в некоторой степени снижают качество исследований, однако не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

Заключение

Диссертация является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне.

Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы.

Работа базируется на достаточном числе исходных данных, примеров и расчетов. Она написана доходчиво, грамотно и аккуратно оформлена. По каждой главе и работе в целом сделаны четкие выводы.

На основании вышесказанного считаю, что диссертация Тютяева Е.В. «Исследование физико-химических свойств каротиноидов при действии температуры и изменения генетического профиля клетки» соответствует специальности 03.01.02 - Биофизика, отвечает требованиям п. 9 «Положения порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением 842 Правительства российской Федерации от 24 сентября 2013 года, как научная квалификационная работа, в которой содержится решение актуальной задачи по определению жирных кислот в растительных маслах пьезоэлектрическими сенсорами, имеющая существенное значения для аналитической химии.

Официальный оппонент

Зотов Василий Сергеевич

кандидат биологических наук,

научный сотрудник лаборатории

биохимии азотфиксации и метаболизма

азота ФИЦ Биотехнологии РАН

119071. Москва, Ленинский пр-т, дом 33, корпус2

тел.: +7 (906) 739 24 83

Email: adni83@yandex.ru

