

## **Отзыв официального оппонента на диссертационную работу**

Тютяева Евгения Владимировича

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

### **Актуальность темы**

В работе диссертанта Тютяева Е.В. затронута проблема роли и состояния каротиноидов в разнообразных фотосинтезирующих организмах, отличающихся генетически. На сегодняшний момент имеется достаточно много информации о роли каротиноидов в различных фотосинтезирующих организмах, таких как высшие растения, водоросли и цианобактерии. Как известно, каротиноиды выполняют несколько функций, в том числе, сбора световой энергии, подводимой к РЦ фотосинтеза, стресс-защитную и структурную функции. Выяснение физико-химических характеристик каротиноидов, их накопление в разных компартментах клетки, выявление связи с процессами преобразования энергии и переноса электрона в первичных процессах фотосинтеза является актуальной проблемой современной биофизики фотосинтеза.

Также важно отметить, что различные каротиноиды фотосинтезирующих организмах, особенно бета-каротин, широко используются для медицинских целей и в пищевой промышленности (Полянский и др., 2001 Шмалько и др., 2004). В этой связи исследование физико-химических свойств каротиноидов является актуальным и перспективным направлением современной биофизики.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций**

Рецензируемая диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, литературного обзора, раздела с описанием материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста и

содержит 76 рисунок и 11 таблиц. Список литературы включает 160 источников.

Обзор литературы представлен двумя частями. В первой части главы описываются структура, функции и биосинтез фотосинтетических пигментов, таких как каротиноиды и хлорофиллы, их взаимосвязь с белками и липидами. Достаточно подробно рассматриваются пути биосинтеза пигментов, а также роль каротиноидов в фотосинтезирующей клетке. Во второй части главы описывается биофизика первичных фотосинтетических процессов с участием каротиноидов, то есть роль каротиноидов в передаче энергии на РЦ, тушении триплетного и синглетного состояний хлорофилла, нейтрализации АФК, формировании NPQ и т.д. Глава соответствует имеющимся литературным данным и производит хорошее впечатление благодаря достаточно глубокому анализу современных литературных представлений о биофизике фотосинтетических процессов с участием каротиноидов. Так, стоит отметить, что около четверти представленных ссылок на научные статьи охватывает последние 5 лет.

Во второй главе детально описаны объекты исследования, включающие генетически модифицированные мутанты цианобактерии *Synechocystis sp. PCC6803*, в частности мутант дефицитный по оранжевому белку, содержащему каротиноиды ( $\Delta OCP$ ), мутанты дефицитные по ФС-1 и ФС-2 ( $\Delta PCSI$  и  $\Delta PCSII$ ), водоросли, гибриды и инбредные линии кукурузы, а также типичные для Поволжья сорта пшеницы. Использование широкого набора совершенно разных объектов часто приводит к поверхностному изучению каждого, в отдельности. Однако, на мой взгляд, диссертанту в значительной степени удалось преодолеть этот барьер. В заключении диссертантом предлагается общая схема процессов с участием всех типов фотосинтезирующих объектов. С другой стороны, на мой взгляд, эта общая схема недостаточно подробно описана в диссертации.

Сильное впечатление производит широкое разнообразие современных биофизических методов исследования. Это и ИК-Фурье спектроскопия, КР-спектроскопия комбинационного рассеяния, метод ЭПР, метод замедленной флуоресценции, пикосекундная флуориметрия, метод оптической визуализации

и др.

Экспериментальная глава включает в себя данные оригинальных исследований диссертанта. Благодаря большому количеству экспериментальных методов и широкому спектру объектов исследования диссертанту удалось получить ценный, с научной точки зрения материал, который расширяет представления о функциональной роли каротиноидов в живой фотосинтезирующей клетке. Достаточно подробно изучается конформация каротиноидов при действии факторов внешней среды, таких как низкие и высокие температуры, на нескольких уровнях организации фотосинтезирующих объектов (цианобактерии, водоросли и высшие растения). Это является важным для понимания роли изменения генетического профиля клетки при адаптации организма к различным условиям внешней среды.

#### **Оценка новизны и достоверности**

В плане новизны к достижениям Тютяева можно отнести выявление роли каротиноидов, как индикаторов физико-химического состояния липидных мембран, то есть наглядно показано, что каротиноиды, благодаря изменению степени делокализации  $\pi$ -электронов, могут «отражать» изменения состояния мембран, что можно детектировать по изменениям спектров комбинационного рассеяния и ряду других биофизических методов. Автором диссертации также впервые была установлена взаимосвязь между изменениями флуоресценции хлорофилла и конформации каротиноидов и степенью ненасыщенности жирных кислот.

Полученные данные статистически обработаны, сравнение результатов проводили при 5% уровне значимости по t-критерию Стьюдента. Ряд результатов подтвержден в работе несколькими методами, что повышает достоверность полученных данных. Результаты работы достаточно полно представлены на Всероссийских и международных конференциях, а также опубликованы в отечественных и зарубежных журналах, в том числе 4 статьи в рекомендованных ВАК РФ и цитируемых в базах данных Web of Science или Scopus.

## Замечания по диссертационной работе в целом

Однако в работе имеется ряд недостатков:

1. В работе имеется ряд небрежностей. Так, в задаче №1 (см. Автореферат и Дисс.) не указано, о каком мутанте идет речь. Также в подписях ряда рисунков не всегда понятно о каком мутанте идет речь. В задаче №4 не указано название водоросли. На стр. 95, строка 10 снизу, написано «каротиноид-белковых комплексов».
2. В разделе «Актуальность» надо писать «различных перекисей» вместо перекисей и липоперекисей. ...Не только в поддержания стабильности ФСА растений.... Ошибка в слове «поддержания».
3. Неясно, как автор судит о неравномерности/равномерности распределения сигнала КР по клетке цианобактерии. Возможно, в сигнал вносит изменение геометрия клетки.
4. Не совсем ясно, как автор учитывал вклад колебаний различных групп молекул отличных от каротиноидов, имеющих аналогичные группы, например,  $-C=C-$  группа имеется в окружающих каротиноиды молекулах.
5. У цианобактерий большую роль в переносе энергии играют фикобилисомы, как автор учитывал их наличие при анализе различных спектров. Например, наряду с каротиноидами фикобилин цианобактерий фикоцианин может вносить вклад в область спектра поглощения 550-615 нм.
6. В положениях, выносимых на защиту, написано (пункт 4), что «функционирование фотосистем зависит от вязкости тилакоидной мембраны. Не совсем понятно, как оценивали вязкость тилакоидной мембраны.
7. Согласно литературным данным на индукционных кривых миллисекундной ЗФ выявлено несколько компонент – две быстрые (максимумы в пределах миллисекунд – сотен миллисекунд) и две медленные - максимумы в пределах нескольких секунд. Какая

