


УТВЕРЖДАЮ
Директор федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Института
физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН
член-корр. РАН, д.б.н., профессор
В. В. Кузнецов
 2016 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации 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.

Известно, что каротиноиды играют важную роль не только в поддержания стабильности фотосистем растений, но также являются важными объектами исследований в области биофизики, биохимии и биотехнологии. В связи с этим весьма актуальным является изучение физико-химических характеристик каротиноидов в генетически модифицированных клетках. Это позволит выявить зависимость между состоянием каротиноидов в фотосистемах и генетически детерминированными факторами растения, а также действием факторов культивирования растения - свет, температура, pH и др.

Диссертация Тютяева Е.В. посвящена исследованию молекулярных механизмов процесса поглощения света. Актуальность темы диссертации очевидна в связи с тем, что проблема изучения физико-химических свойств пигментов – каротиноидов как фотособирающего центра, так и мембран растительной клетки в норме, так и при действии различных факторов внешней среды, особенно у организмов с различным генетическим профилем, является важным направлением биофизики и физиологии растений. С другой стороны, в связи с тем, что каротиноиды в клетках животных и человека выполняют важную роль в ряде метаболических процессах (формирование антиокислительного статуса клетки, участие в формировании липопротеиновых комплексов плазмы крови, возбудимости миелиновых нервов и т.д.) исследование молекулярных свойств данной молекулы представляет дополнительный научно-практический интерес.

Диссертационная работа Тютяева Е.В. является оригинальным исследованием, проведенном на разных уровнях структурной организации (клетки водорослей, ткани листа, выделенные фотосистемы) с помощью современных спектральных методов. Установлено, что в мутанте $\Delta PSII$ в сравнении с диким типом, содержание каротиноидов увеличено и пигменты распределены равномерно по всей клетке. У дикого типа и мутантов $\Delta PSI/\Delta PSII$, ΔOCP цианобактерии *Synechocystis sp. PCC6803*, обнаружено, что увеличение времени жизни флуоресценции хлорофилла коррелирует с уменьшением степени делокализации π -электронной системы молекул каротиноидов. В работе установлено, что у дикого типа цианобактерий конформация каротиноидов зависит от изменения состава жирных кислот, вызванного ферментом – десатуразой. Доказано, что инбредные линии растений отличаются по строению ССК ФС-1 и ССК ФС-2, а гибриды - конформацией молекул каротиноидов. Изменение температуры приводит как к увеличению флуоресценции хлорофилла, так и изменению распределения пигмента в листе, что, вероятно, связано с фазовыми переходами липидов мембран.

Очевидно, что полученные результаты представляют дополнительную информацию для более глубокого изучения путей взаимодействия между конформацией каротиноидов, флуоресценцией хлорофилла и физико-химическим состоянием фотосинтетических мембран, для разработки методологии тестирования процессов регуляции и адаптации фотосинтетического аппарата к стрессовым условиям, могут быть востребованы в исследованиях молекулярной генетики и селекции. Результаты по изменению содержания,

конформации и распределения пигментов (каротиноиды, хлорофилл) могут быть предложены в качестве методологии диагностики состояния фотосинтетического аппарата.

Можно считать удачной попытку диссертанта на основе большого экспериментального материала показать возможность использования каротиноидов, в качестве биологических маркеров физиологического состояния клетки разработав при этом способы детекции и описания некоторых фотосинтетических процессов, происходящих при том или ином изменении спектральных характеристик каротиноидов. Так, Тютяев Е.В. доказал наличие зависимости между флуоресценцией хлорофилла и конформаций каротиноидов. Импонирует точка зрения диссертанта о том, что каротиноиды в клетках цианобактерий *Synechocystis sp.* могут в ходе ряда процессов перераспределяться, в зависимости от изменения метаболизма клетки, например, в случае отсутствия у мутанта *ΔPSII* фотосистемы 2 (гл. 3.1.1). Отметим, что перераспределение интенсивности флуоресценции выявлены автором и в ткани листа, при изменении температуры выращивания пшеницы.

В диссертации представлены результаты экспериментов, свидетельствующих о зависимости между фазовым состоянием липидов мембран и флуоресценцией хлорофилла, а именно, максимальный уровень замедленной флуоресценции хлорофилла наблюдается при температуре фазового перехода липидов мембран. Очевидно, что данному моменту работы способствовали разработанные автором методологические подходы, комплексный и системный анализ исследуемой проблемы, корректные, репрезентативные данные исследований, фактического и статистического материала, а также использование широкого круга литературных источников.

Необходимо отметить, что в диссертации четко сформулированы выводы вытекающие из анализа экспериментальных данных, полученных диссертантом. К наиболее важным из выводов диссертанта можно отнести итоговое положение о том, что флуоресценция хлорофилла регулируется каротиноидами, локализованными в фотосистемах и тилакоидных мембранах клетки, а также действием внешних факторов (рН, температура) и генетическим статусом организма. Данный вывод актуализирует необходимость изучения специфики взаимосвязи между флуоресценцией хлорофилла, конфирмацией каротиноидов и фазовым состоянием липидов мембран.

Представленная к защите диссертация и автореферат Тютяева Е.В. на тему «Исследование физико-химических свойств каротиноидов при действии температуры и изменения генетического профиля клетки» представляют теоретическую и практическую ценность, а автор зарекомендовал себя способным и квалифицированным специалистом. Диссертационная работа носит теоретический и прикладной характер, является оригинальным, самостоятельным исследованием.

Материалы диссертации изложены на 156 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы. Диссертационная работа включает 66 рисунков и 11 таблиц. Список цитируемой литературы включает 160 источников, в том числе 140 на иностранных языках.

По теме диссертации опубликовано 16 работ, в числе которых 4 статьи в российских научных журналах, рекомендованных ВАК, 2 статьи индексируемые в базах данных Web of Science и Scopus.

Конечно, комплексное исследование, предпринятое диссертантом, не свободно от недостатков. К недостаткам работы можно отнести следующие положения:

1) При оценке влияния состава жирных кислот на их конформацию при изменении температуры у дикого типа цианобактерий *Synechocystis* в условиях нормальных температур (33°C) и в условиях холодого шока (25°C), не был проведен экспериментальный анализ состава жирных кислот тилакоидной мембраны;

2) Проводя эксперименты по изучению влияния рН на конформацию каротиноидов в клетках водоросли *Cladophora*, автор недостаточно четко обосновывает выбор условий культивирования водоросли;

3) В серии экспериментов по изучению конформации каротиноидов в клетках мутанта *ΔPSII* и дикого типа цианобактерии *Synechocystis sp. PCC6803*, недостаточно ясно рассуждение о том, что отсутствие ФС-2 может влиять на содержание каротиноидов ввиду

«интенсификации свободно-радикальных процессов», связанной с усилением окисления органического субстрата;

4) В главе 3.3.1 изучается температурная зависимость флуоресценции хлорофилла в листьях гибридов, инбредных линий кукурузы и двух сортов пшеницы, однако не затрагивается проблема экспериментального изучения физико-химических характеристик каротиноидов. Как автор может обосновать это?;

5) В тексте диссертации присутствуют неудачные стилистические выражения и обороты, и также присутствуют опечатки;

Однако указанные недостатки не оказывают существенного влияния на теоретические и прикладные основы диссертационной работы.

Структура и логика изложения материала в диссертационном исследовании выглядят достаточно обоснованными в контексте раскрытия поставленной цели и задач исследования. Цели и задачи исследования, сформулированные автором, достигнуты. Работа написана логично, доказательно, ясным и строгим научным языком. Стиль и оформление работы не вызывают замечаний. Сильную сторону диссертации составляет разработанный автором комплекс практических исследований и рекомендаций относительно изучаемой проблемы в третьей главе диссертационного исследования.

В целом, представленная диссертация и автореферат полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Тютяев Е.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 - «Биофизика».

Доклад Тютяева Е.В. на тему «Исследование физико-химических свойств каротиноидов при действии температуры и изменения генетического профиля клетки» был заслушан на объединенном семинаре лаборатории молекулярных основ внутриклеточной регуляции, лаборатории управляемого фотобиосинтеза, группы экофизиологии микроводорослей Института физиологии растений РАН. Диссертация и отзыв на диссертацию и автореферат обсуждены на заседании расширенного семинара лаборатории молекулярных основ внутриклеточной регуляции Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН 20.09.2016 г., протокол № 26.



Лось Дмитрий Анатольевич
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией
молекулярных основ внутриклеточной регуляции
127276, Москва, ул. Ботаническая дом 35
Тел.: (499) 977-93-72
E-mail: losda@ippras.ru

«22» сентября 2016г.

Сведения о ведущей организации

1. Полное наименование: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН Российской академии наук
2. Сокращенное наименование: ИФР РАН
3. Юридический адрес: 127276, Россия, Москва, ул. Ботаническая, дом 35
4. Телефон: (499) 977-80-22;
5. E-mail: ifr@ippras.ru
6. Адрес официального сайта в сети Интернет: <http://www.ippras.ru/>