



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Российской академии наук

Отзыв официального оппонента на диссертационную работу

Ярошевича Игоря Александровича

«Структурно-конформационные состояния и
спектральные характеристики каротиноида в фотоцикле
оранжевого каротиноидного белка цианобактерий»,
представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.01.02 — Биофизика.

Представленная к защите работа посвящена изучению спектральных и конформационных свойств каротиноидов в составе фотобелков цианобактерий при помощи квантово-химических расчетов. Этот подход дополняет эксперименты по оптическим свойствам и определению 3D-структуры этих белков вместе с кофакторами, а также *in silico* эксперименты, основанные на молекулярной механике, обладающие меньшей точностью (и не дающие спектроскопических предсказаний), но зато бóльшим охватом по времени и числу атомов, подвластных моделированию.

Основной объект исследования в диссертации — оранжевый каротиноидный белок (ОСР), являющийся «резервным тушителем» фотохимического возбуждения, возникающего в фотосинтетических системах цианобактерий на ярком свете; проще говоря, он позволяет клеткам этих организмов не «выгореть», когда освещение слишком интенсивное. Происходит это благодаря переходу белка из неактивной оранжевой в активную красную форму ($ОСР_o \rightarrow ОСР_r$), способную деактивировать «перегретую» фикобилисом с регенерацией исходной формы $ОСР_o$. Этот процесс сопровождается фотоизомеризацией каротиноида, подобно пружине встроенного в ОСР, и существенному изменению конформации белка с частичной диссоциацией двух доменов, совместно связывающих каротиноид. Это, в свою очередь, сопровождается полным высвобождением одного из β -иононовых колец каротиноида из белкового кармана связывания на одном из доменов и разрывом водородных связей, удерживающих там кольцо в неактивном состоянии. По большому счету, диссертация посвящена именно самому последнему шагу в описанной цепочке событий — разрушению этих водородных связей с парой аминокислотных остатков (триптофана и тирозина). При этом, что происходит в фотоцикле дальше, остается совершенно за рамками рассмотрения.

Автор мастерски использует современные подходы квантовой химии, чтобы изучить до обидного маленький элемент общей картины. При прочтении работы мне не хватило чуть более широкого тематического охвата: чтобы мне не просто объяснили, что водородные связи тут могут разрываться по альтернативному (ионному) механизму, но чтобы была изучена и изложена вся картина активации ОСР, включая фотоизомеризацию каротиноида и расхождение N- и C-доменов. Иначе от работы остается привкус шутки про специалиста по шестому членику задней левой ноги паука.

В то же время, у Игоря неплохая публикационная активность: диссертация основана на пяти статьях, из которых четыре вышли в международных рецензируемых журналах с приличными импакт-факторами; кстати, помимо «диссертационных», есть и еще три статьи на не связанные темы. Индекс Хирша Игоря равен 4, что немало для молодого исследователя и показывает потенциал к росту. Отдельно хочется подчеркнуть, что статьи Ярошевича выглядят существенно интереснее самой диссертации — видимо, это обусловлено также вкладом соавторов и последующим «разделом» результатов, принадлежащих лично диссертанту, и данных, предоставленных для публикаций другими людьми.

Автор показывает себя профессионалом высокого уровня в вычислительной биофизике, однако хочется пожелать ему на будущее более широкого кругозора и масштаба поставленных задач.

Ярошевичем И.А. поставлены и аккуратно решены следующие задачи:

1. Исследованы конформационные переходы в сопряженной цепи каротиноидов при переходе из основного состояния в возбужденное;
2. Изучена взаимная ориентация каротиноида и двух аминокислотных остатков ОСР — тирозина и триптофана, — а также охарактеризованы образуемые ими водородные связи;
3. Предложен альтернативный путь диссоциации этих h -связей через ионный механизм.

Актуальность исследования

Квантово-механическое описание молекулярных систем является единственно верным, потому что только оно полностью описывает весь спектр явлений, происходящих с атомами и молекулами: образование и распад связей, межмолекулярное распознавание, оптические и магнитные явления. Поэтому именно с его помощью можно изучить выбранные объекты (сам ОСР и каротиноид), важнейшей характеристикой которых являются спектральные и электронные свойства. Классическая молекулярная динамика таких вещей делать не умеет.

С другой стороны, фотосинтетические процессы уже достаточно хорошо изучены — спустя многие десятилетия после пионерских работ XX века. Поэтому я бы оценил актуальность этой работы как среднюю.

Структура и содержание диссертации

В диссертации есть введение, три главы, заключение и список литературы. Она изложена на 96 страницах. Во **Введении** речь идет об актуальности проблемы, ставятся цели и задачи работы, описывается ее новизна и практическая значимость, говорится об актуальности, публикациях и апробации на различных научных мероприятиях.

В **Главе I** рассказывается про объекты исследования: каротиноиды, связывающие их белки, а также про их роль в фотосинтетических реакциях. **Глава II** посвящена целиком описанию методик квантовой механики: от уравнения Шредингера до реально использовавшихся в работе полуэмпирических методов. В **III Главе** изложены результаты работы: конформационные и электронные параметры основного и возбужденного состояний каротиноидов, влияние на спектральные свойства, механизм разрыва водородных связей, стабилизирующих неактивную форму ОСР (предложен альтернативный «ионный» механизм), влияние электростатического поля, создаваемого белковым окружением, на свойства каротиноида и параметры упомянутых h -связей. Кстати, в таблице 3.6

этого раздела находится интересный результат, вообще не анонсированный в положениях, вынесенных на защиту: какая длина сопряженной цепочки необходима молекуле, чтобы выступать «тушителем» трех основных классов окислителей в клетке: синглетного кислорода и синглетной и триплетной формы хлорофилла.

Диссертация и автореферат связно и дельно написаны и красиво оформлены, однако в них есть некоторое число опечаток и помарок, типа запятых и индекса при ОСР — он то верхний, то нижний, то его вообще нет.

Замечания по работе

К работе есть несколько замечаний.

1. Основное я уже изложил выше — тема кажется узковатой. Изучено и рассчитано всего очень много, но об очень уж малом. Очень не хватает моделирования перехода ОСР из оранжевой формы в красную и сопровождающей конформационной перестройки. Возможно, это не делается средствами одной только квантовой химии, но это лишь подчеркивает, что на первом месте стоял метод, а не биофизическая цель.
2. Очень «одинокое» выглядит также изучение взаимодействия каротиноида всего с «парой» аминокислотных остатков, как будто в составе белка больше ничего и нет.
3. Так, непонятно, почему при расчете электростатического потенциала нужно было весь белок редуцировать до восьми центров (рис. 3.11).
4. Формально слово «обуславливает» можно писать и через «а» (действуют оба варианта), но в более правильном варианте идет «о», т.к. проверочное слово — «слово».
5. Резануло глаз также выражение «первичная последовательность», считающееся у биохимиков и биофизиков неприличным. *Первичной* называют **структуру** белков (она же — аминокислотная **последовательность**).

Заключение по диссертации И.А. Ярошевича

Несмотря на перечисленные замечания, работа производит очень хорошее впечатление как по публикациям, так и по результатам. Личный вклад автора во всю работу не вызывает сомнений, особенно учитывая, что у него есть и не вошедшие в диссертацию статьи. Автореферат точно и полно отражает содержание всей работы. Я уверен, что в дальнейшем автора ждут расширение научного кругозора и более амбициозные и интересные задачи.

Указанные выше замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.02 — «Биофизика» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Ярошевич Игорь Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — «Биофизика».

9 ноября 2020 г.

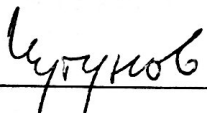
Официальный оппонент

С.н.с. Группы анализа структуры мембранных белков *in silico*

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова

Российской академии наук

 / Чугунов Антон Олегович

117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

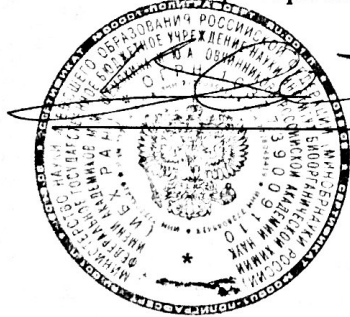
Телефон: +7-495-336-20-00 (рабочий); +7-915-108-88-25 (мобильный).

Е-мейл: batch2k@yandex.ru.

Специальность к.ф.-м.н.: 03.00.02 — Биофизика.

Подпись Чугунова А. О. заверяю

Ученый секретарь Института биоорганической химии РАН, д.ф.-м.н.



 / Олейников Владимир Александрович