

Отзыв официального оппонента на диссертационную работу
Горшковой Юлии Евгеньевны «СТРУКТУРА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ
ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И
ПОЛЯРНЫХ МОЛЕКУЛ ПО ДАННЫМ МАЛОУГЛОВОГО РАССЕЯНИЯ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата физико-
математических наук по специальности 01.04.07 – физика
конденсированного состояния

Автором выбрана **актуальная** область исследования свойств биологических мембран на основе модельных фосфатидилхолиновых мембран. Несмотря на то, что данная тематика активно развивается в современной мировой науке, ряд важных проблем, таких как локализация воды или органических растворителей в мембране, распределение ионов на ее поверхности, изменение структурных параметров самих мембран и межмембранных взаимодействий, остается не решенным до конца. Кроме фундаментального интереса, представленные в диссертационной работе объекты исследования представляют интерес и с прикладной точки зрения, что обусловлено большим потенциалом их применений в биомедицинских технологиях: криосохранение биоматериалов, доставка лекарств и генная терапия. В связи с вышесказанным, диссертационная работа, посвященная изучению взаимодействиям бислойных липидных мембранах с ионами кальция и органическими растворителями, представляется актуальной.

Представленная работа принадлежит приоритетным направлениям, её результаты обладают **новизной** и представляют **научную и практическую ценность**.

Автором ставилась цель – определение роли ионов Ca^{2+} и гидрофобной/гидрофильной природы диметил- и диэтилсульфоксидов (ДМСО и ДЭСО) в структуре мембран и балансе сил межмембранныго взаимодействия. Поставленные автором задачи были решены с помощью малоуглового нейтронного и рентгеновского рассеяния. Важно, что полученные фундаментальные результаты работы являются существенным

вкладом в понимание влияния полярных молекул (сульфоксидов) и катионов на структуру и свойства модельных фосфатидилхолиновых (ФХ) мембран и, по существу, открывают возможности для развития данного направления исследования применительно к комплексным липидным системам и реальным биологическим мембранам. Объем решенных задач свидетельствует о масштабности работы, её содержание полностью раскрывает научное и практическое значение проведенных автором исследований, новизну и актуальность результатов, что отражено в положениях, выносимых на защиту. Очевиден преобладающий личный вклад автора в постановке задач, выборе методов и проведении экспериментов, приготовлении образцов, анализе данных и обобщении материала, представлении результатов в публикациях и докладах.

Работа изложена на 139 страницах и хорошо иллюстрирована (59 рис.), включает введение, четыре главы, заключение, список цитирования (178 ссылок). Опубликовано 6 статей, 20 тезисов российских и международных конференций, что является достаточным для квалификационной работы на соискание ученой степени кандидата наук.

Введение раскрывает проблематику физики липидов, их структурообразование в водной среде и межмембранных взаимодействий в присутствии ионов кальция и сульфоксидов, возможные направления решения задач в этой области, что и предопределило выбор темы, цели и задач исследований. Их главные аспекты сформулированы в положениях, выносимых на защиту. Оригинальность, новизна, научная и практическая значимость работы подтверждена публикациями и апробацией.

В первой главе обсуждаются фазовые и структурные переходы в липидных мембранах. Представлено современное состояние изучения взаимодействия ионов кальция с липидными мембранами и дан обзор межмембранных взаимодействий ФХ мембран в присутствии сульфоксидов. Рассмотрены основные методы, используемые в мембранный биофизике и относящиеся к теме настоящей диссертации, освещены преимущества

использования рассеяния нейtronов и рентгеновских лучей при исследовании биологических объектов.

Вторая глава является методической частью диссертационной работы. В ней представлены материалы и методы приготовления объектов исследования: модельных однослойных или многослойных ФХ мембран. В этой же главе описан спектрометр малоуглового нейтронного рассеяния ЮМО, на котором была выполнена основная часть экспериментов, даны его характеристики и описание. Приведены методы первичной обработки спектров МУРН и основные модели для описания рассеяния от однослойных, многослойных везикул и комбинированных систем.

Третья глава посвящена изучению влияния ионов Ca^{2+} на структуру и фазовые переходы ФХ мембран, приготовленных разными способами и при разных температурных режимах. Определена критическая концентрация ионов Ca^{2+} , при которой происходит непрерывный переход мультислойных мембран в «несвязанное» состояние как в жидкокристаллической, так и в гелевой фазах. Впервые предложен подход для определения константы связывания ионов Ca^{2+} с липидными мембранами по данным МУРН, определены термодинамические параметры структурного перехода. Проведенный анализ полученных количественных значений с литературными данными позволяет говорить о надежности результатов и, как следствие, демонстрирует расширение возможностей метода МУРН для аналогичных систем.

Четвертая глава обобщает данные по влиянию сульфоксидов на структуру липидных мембран. Существенным результатом работы является демонстрация того что взаимодействие ДМСО-липид связано со значительной дегидратацией липидного бислоя. Сравнительный анализ влияния ДЭСО и ДМСО на структуру и свойства липидных мембран позволил сделать вывод о важности вклада гидрофобных взаимодействий при взаимодействии ДЭСО-липид. Оригинальные результаты получены при исследовании кинетики слияния однослойных везикул, вызванного добавлением диметил- и диэтилсульфоксидов с мольными долями 0.1 и 0.2.

Выявлено, что при охлаждении-нагревании система способна возвращаться в исходное состояние только при добавлении ДЭСО (0.1).

В заключении обобщены перечисленные фундаментальные и прикладные достижения. Проведенные исследования расширяют существующие знания о структуре и взаимодействии липидных мембран в присутствии полярных растворителей и ионов.

Отдавая должное качеству и значимости работы, следует отметить, что, как и всякое обширное исследование, она не свободна от замечаний, которые, преимущественно, связаны с представлением материала.

1. На стр.15 указано «Фосфолипиды в зависимости от входящего в их состав многоатомного спирта разделяют на глицерофосфолипиды, фосфатидилинозитолы и сфингофосфолипиды». Это не так. Фосфатидилинозит относится к классу глицерофосфолипидов. Там же «Фосфатидилсерин (ФС) и фосфатидиллизин (ФИ) обнаружены в составе бактериальных мембран». Фосфатидиллизин, по-видимому, опечатка. А фосфолипиды ФС и ФИ основные отрицательно заряженные компоненты мембран эукариотов. Насколько я знаю, в составе бактериальных мембран данные фосфолипиды не обнаружены.
2. Имеются некоторые неточности и опечатки. Например, для одного и того же журнала используется разное написание, *Biochim. Biophys. Acta* и *BBA* (ссылка 70).
3. Указано, что для получения монобислойных везикул использовался экструдер (Hamilton Co., Reno, Nevada, USA). На самом деле экструдер производится фирмой Avanti, в комплект которого входят два шприца фирмы Гамильтон.
4. В диссертации используется термин «в растворе $CaCl_2 \bullet 2H_2O/D_2O$ ». Это неправильно. В водных растворах дигидрата хлорида кальция уже нет. Тоже самое, о термине « P^-N^+ диполь». На атоме фосфора отрицательного заряда нет. Отрицательный заряд локализован на атоме кислорода. Наверное, стоило бы выбрать другое сокращение. Типа PO_4^- .

Сделанные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертации Горшковой Юлии Евгеньевны «Структура и взаимодействие липидных мембран в присутствии ионов кальция и полярных молекул по данным малоуглового рассеяния».

В диссертационной работе решен комплекс задач фундаментального и прикладного характера, что важно для развития научных основ применения ионов кальция и сульфоксидов ДМСО, ДЭСО в качестве агентов слияния мембран для биомедицинских приложений. Стоит отметить и важные результаты, которые могут быть полезны в методическом аспекте при приготовлении стабильных монобислойных везикул.

Работа выполнена на высоком научном и техническом уровне. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, обоснованы и достоверны. Её содержание хорошо структурировано и логично изложено. Результаты опубликованы в 6 отечественных и зарубежных рецензируемых журналах, прошли апробацию на российских и международных конференциях. Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертации.

Диссертация соответствует заявленной теме по специальности 01.04.07 – физика конденсированного состояния, по которой представлена к защите на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук.

По актуальности, научной новизне, практической значимости, представленная к защите диссертация Горшковой Юлии Евгеньевны удовлетворяет всем требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук, и полностью соответствует Положению о присуждении ученых степеней» (п. 9-14), утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

Горшкова Юлия Евгеньевна заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07 – физика конденсированного состояния.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой биофизики,
заведующий лабораторией химии и
физики липидов

Федерального государственного
автономного образовательного
учреждение высшего образования
«Московский физико-технический
институт (государственный
университет)»
доктор химических наук

Чупин Владимир Викторович

10 ЯНВ 2019

Контактные данные:

тел.: +7(926)8780023, e-mail: vvchupin@gmail.com

Специальность, по которой официальным оппонентом
зашита диссертация 02.00.10 – биоорганическая химия

Адрес места работы:

141701, Московская область,
г Долгопрудный, Институтский пер., 9.
Тел.: +7 (495) 408-45-54;
e-mail: info@mipt.ru

Подпись сотрудника МФТИ В.В. Чупина удостоверяю.

Ученый секретарь МФТИ

Ю.И. Скалько

