

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию 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»

Диссертация Юлии Евгеньевны Горшковой посвящена интересным и актуальным в научном плане и значимым с практической точки зрения структурным исследованиям влияния сульфоксидов и катионов на структуру и свойства фосфолипидных мембран на основе фосфатидилхолина. В качестве основного метода структурной нанодиагностики был выбран метод малоуглового рассеяния, роль которого неоценима, как в стремительно развивающейся в последние годы структурной биологии, так и в исследовании различных наноматериалов, в том числе медицинского назначения. Основное внимание в работе уделено определению роли ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и гидрофобного/гидрофильного взаимодействия в случае диметилсульфоксида (ДМСО) и диэтилсульфоксида (ДЭСО) в балансе сил межмембранных взаимодействий. В связи с меньшей токсичностью ДЭСО для ряда клеток животного и растительного происхождения, исследования с данным криопротектором являются актуальными для современных криобиологии и криомедицины. В диссертационной работе были определены температуры основного фазового перехода ФХ мембран в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и сульфоксидов как для приготовленных так и спонтанно образованных мультислойных везикул. Был изучен переход мультислойных мембран в «несвязное» состояние, индуцируемое увеличением концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Проведен сравнительный анализ влияния обоих типов сульфоксидов в широком диапазоне их концентраций на структуру ФХ мембран. Был исследован процесс слияния ФХ мембран в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и сульфоксидов ДМСО и ДЭСО, определены роли таких факторов как время, концентрация индуцирующих слияние веществ и условия приготовления образцов на данный процесс, а также изучена кинетика слияния однослойных везикул в жидкокристаллической фазе, вызванного добавлением сульфоксидов.

Тот факт, что диссертационная работа выполнена с применением современных структурных методов, таких как малоугловое рентгеновское и нейтронное рассеяние, и что она является значительным шагом вперед для понимания физико-химических свойств, столь важных объектов как биологические мембранны, обуславливает безусловную актуальность работы.

Диссертационная работа состоит из Введения, четырех глав, Заключения и списка цитируемой

литературы. Общий объем диссертации составляет 139 страниц. Во Введении дано обоснование актуальности работы, сформулированы основная цель и задачи диссертационной работы, обсуждаются научная новизна и значимость исследования. В Первой главе дан обширный литературный обзор по структуре и основным свойствам биологических и липидных мембран, а также межмембранным взаимодействиям. Рассмотрены физические состояния и фазовые переходы липидных мембран, а также приведены факторы, влияющие на изменение температуры основного фазового перехода. Отдельное внимание уделено рассмотрению основных методов, используемых в мембранный биофизике и относящихся к теме диссертации, а также освещены преимущества использования рассеяния нейтронов и рентгеновских лучей при исследовании биологических объектов. Вторая глава посвящена описанию использованных в работе материалов и методов приготовления модельных однослойных или многослойных ФХ мембран в различных растворителях, описан спектрометр малоуглового нейтронного рассеяния ЮМО и приведены методы первичной обработки кривых МУРН. Представлены основные модели для описания рассеяния от однослойных, многослойных везикул и комбинированных систем. В Третьей главе изучается влияние ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на структуру и фазовые переходы ФХ мембран, приготовленных разными способами и при разных температурных режимах. Четвертая глава посвящена изучению влияния сульфоксидов на структуру и фазовые переходы ФХ мембран в зависимости от мольной доли ДМСО и ДЭСО (X) в растворе сульфоксид/вода. В главе Заключение подведены итоги работы, обобщены и систематизированы основные результаты проведенных исследований. Представленные выводы логично вытекают из полученных экспериментальных данных и исчерпывающим образом аргументированы, сомнений в их корректности нет.

Диссертационная работа написана хорошим научным языком. Грамотно подобран иллюстративный материал. Поскольку диссертация состоит из нескольких частей и получено множество результатов, заключения, сделанные в конце каждой главы, способствуют лучшему восприятию материала диссертации. Диссертация представляет собой цельную, завершенную научно-исследовательскую работу по актуальной тематике и, несомненно, имеет практическую значимость. Для получения экспериментальных данных использовалось современное исследовательское оборудование. В диссертационной работе получен ряд конкретных результатов, обладающих научной новизной: впервые определена критическая концентрация ионов кальция, при которой мультислойные везикулы ДМФХ в избытке растворителя переходят из «связанного» состояния в «несвязанное»; предложен новый метод

точного определения константы связывания двухвалентных катионов с липидным бислоем по данным МУР, исследовано влияние ДЭСО на структуру и свойства ДМФХ в избытке растворителя; с помощью метода вариации контраста количественно показано, что ДМСО с мольной долей 0.2 в растворе ДМСО/вода приводит к значительной дегидратации мембранный поверхности; впервые была прослежена кинетика слияния ФХ мембран, индуцируемого сульфоксидами.

Несмотря на исключительно высокий уровень работы, к ней можно сделать следующие замечания:

На мой взгляд, в несколько негативном свете представлен метод малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) в Главе 1. Не оспаривая преимуществ малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН) по части вариации контраста, следует отметить, что МУРР эффективно используется для структурной характеристики различных биологических систем, включая содержащие липиды. В качестве преимуществ МУРН, напротив, не указаны меньшие радиационные повреждения образца.

Исходя из определения обратного вектора рассеяния  $q = 4\pi \sin(\theta)/\lambda$ , формула 2.2 не должна содержать  $2\pi$  в экспоненте. В формуле 2.6, по моему мнению, должен фигурировать квадрат контраста, а в формуле 2.7, напротив, должен быть форм-фактор в первой степени. Также на рисунке 2.2  $q$  должно равняться  $k_1 - k_0$ , а не наоборот.

ДМСО является с одной стороны апротонным растворителем, который увеличивает температуру основного фазового перехода ФХ мембран, с другой стороны он является анестетиком. Рисунок 1.8, указывающий, что анестетики понижают температуру перехода, таким образом, входит в некоторое противоречие с результатами работы.

При взаимном проникновении углеводородных хвостов в  $L\beta$  фазе (рис. 4.2 а) должно наблюдаться уменьшение толщины липидного бислоя, однако это не наблюдается на рис. 4.2 б, где значение  $db$  остается практически постоянным. Возможно, это происходит вследствие уменьшенного диапазона ХДМСО. Следовало бы дать такой же диапазон ХДМСО как на 4.2 а. Вставка В на рис. 4.11 – пустая.

Указанные недостатки не являются принципиальными и ни в коей мере не затрагивают сути и основных выводов работы, поэтому не влияют на ее общую положительную оценку. По материалам диссертации опубликовано шесть статей в российских и международных научных журналах, индексируемых в базе Scopus. Часть материалов работы отражена в трудах конференций. Диссертация прошла всестороннюю апробацию на российских и

международных конференциях и совещаниях в виде 23 докладов. Содержание автореферата полностью соответствует диссертации. Личный вклад автора в диссертационную работу не вызывает сомнений.

Рассматриваемая диссертационная работа является законченным исследованием и полностью удовлетворяет всем требованиям Постановления правительства Российской Федерации о порядке присуждения ученых степеней от 24 сентября 2013 года N 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант, Горшкова Юлия Евгеньевна, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 01.04.07 – «Физика конденсированного состояния».

Официальный оппонент:

Петухов Максим Владимирович, к.ф.-м.н.,

26.12.2018  
НВ

Федеральный научно-исследовательский центр

"Кристаллография и Фотоника" Российской академии наук

119333, Москва, Ленинский проспект 59

E-mail: maxim@embl-hamburg.de

Подпись сотрудника ФНИЦ «Кристаллография и Фотоника» Петухова М.В. заверяю

Ученый секретарь ФНИЦ «Кристаллография и Фотоника» Л.А. Дадинова

