



МИНОБРНАУКИ РОССИИ

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Иркутский государственный университет»

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ**

(НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ»)

ул. Ленина, д.3, г. Иркутск, 664003

Тел.: (3952) 24-30-77 Факс: (3952) 34-00-07

ОКПО 02068226, ОГРН 1033801008218,

ИНН/КПП 3808013278/380801001

[www.isu.ru](http://www.isu.ru), e-mail: [director@bio.isu.ru](mailto:director@bio.isu.ru)

05 мая 2017г.

№ 19-072-17

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Тимофеева М.А. на  
диссертационную работу Кондаковой Марины Александровны

**«Влияние гипотермии на состав и активность суперкомплексов системы  
окислительного фосфорилирования митохондрий  
проростков гороха *Pisum sativum L.*»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений».

Диссертационная работа посвящена изучению суперкомплексной организации системы окислительного фосфорилирования митохондрий этиолированных проростков гороха и исследованию влияния на неё гипотермии различной интенсивности. Суперструктурная организация не только дыхательных комплексов, но и других ферментных митохондриальных систем, таких как ферменты цикла трикарбоновых кислот,  $\beta$ -окисления жирных кислот, трансаминирования и окисления аминокислот, получает все больше экспериментальных подтверждений. Имеющиеся литературные данные указывают на то, что ферменты метаболических путей в большинстве случаев организованы в сложные полиферментные структуры, которые удерживают субстраты в пределах ферментной цепочки, не высвобождая при этом интермедиаты в окружающую среду.

Установлено, что комплексы окислительного фосфорилирования митохондрий в нативном состоянии могут ассоциировать и образовывать суперкомpleксы и даже целые дыхательные участки, называемые мегакомплексами. Существует мнение, согласно которому эти структуры

обеспечивают более стабильное и эффективное функционирование дыхательной цепи. Однако информации по надмолекулярной организации системы окислительного фосфорилирования митохондрий и тем более по влиянию стрессовых факторов на нее пока недостаточно.

Объектом исследования в работе явились этиолированные проростки гороха. Суперкомплексная организация системы трансформации энергии в митохондриях этого вида растений мало изучена. Целью исследования явилось выявление изменений в составе, содержании и активности надмолекулярных структур в условиях гипотермии различной интенсивности.

Диссертация содержит все необходимые разделы, соответствующие общим требованиям к структуре диссертационной работы, и состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы по изучаемой проблеме, описания объекта и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Объем работы составляет 167 страниц, в том числе 16 рисунков и 6 таблиц. Список литературы включает 236 источников, в том числе 197 на английском языке. Одним из достоинств работы является представление дополнительного материала в форме 6 приложений, что облегчает понимание результатов диссертации и служит хорошим подтверждением заключений, сделанных на основе анализа данных.

Во введении автор обосновывает актуальность темы исследования, формулирует цель работы, задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту. В этом разделе отражена научная новизна работы, теоретическая и практическая значимость, приведены сведения об апробации работы и публикациях. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах из Перечня ВАК РФ.

Обзор литературы грамотно составлен и хорошо структурирован. Подбор научной литературы, используемый как для написания обзора, так и для обсуждения полученных результатов, соответствует теме диссертационной работы и позволяет судить о современном состоянии изучаемого вопроса. В обзоре приведены известные сведения о компонентах системы окислительного фосфорилирования митохондрий млекопитающих, дрожжей и растений (комплексах I-V, убихиноне, цитохроме *c* и альтернативных ферментах дыхания). Информативно представлен материал о надмолекулярной организации системы

трансформации энергии митохондрий. Отдельное внимание уделено влиянию стрессовых факторов среды на нативную организацию и активность электронно-транспортной цепи растительных органелл, рассмотрены возможные функции суперкомплексов при стрессе. В целом, представленные данные в полной мере дают возможность читателю оценить место исследований, проведенных автором, в системе современных знаний об организации и функционировании комплексов окислительного фосфорилирования митохондрий.

В разделе «Выводы из обзора литературы» проведен анализ и краткое обобщение имеющихся данных, выделены нерешенные вопросы, определившие актуальность, цель и задачи исследования.

В главе «Объект и методы исследования» указан объект исследования, обосновано проведение экспериментов по низкотемпературной обработке проростков гороха, достаточно подробно изложены классические и современные методы исследования. Основными методами исследования являлись: метод выделения и очистки митохондрий, одномерный и двумерный нативный электрофорез, энзимография, а также иммуноблоттинг. Кроме того, в работе применялись методы электронной микроскопии и масс-спектрометрического анализа.

В главе «Результаты и обсуждение» полученные в ходе экспериментов данные в диссертации представлены тремя блоками: 1) чистота и качество изучаемых фракций митохондрий; 2) организация системы окислительного фосфорилирования митохондрий проростков гороха; 3) влияние низких температур на состав, содержание и активность компонентов системы окислительного фосфорилирования проростков гороха. Результаты исследования изложены грамотно и обсуждаются с привлечением современных литературных данных. К числу наиболее значимых результатов можно отнести следующие:

1. Впервые показана сложная организация системы трансдукции энергии в митохондриях проростков гороха. Обнаружены новые «растительные» суперкомpleксы, в состав которых входят альтернативные ферменты, а также мегакомплекс, включающий сукцинатдегидрогеназу.

2. Также впервые отмечено, что гипотермия вызывает снижение содержания и активности большинства суперкомплексов, параллельно отмечено

увеличение содержания свободных форм комплексов I и димера III с резким ростом активности первого фермента при стрессе.

3. Показано, что частичная потеря суперкомплексной организации сопровождается развитием процессов перекисного окисления липидов.

4. Обнаружены особенности изменений в надмолекулярной организации комплексов окислительного фосфорилирования, характерные для закаленного и стрессового состояния.

В главе «Заключение» представлен краткий итоговый анализ полученных в диссертации данных и предложена схема организации системы окислительного фосфорилирования митохондрий из проростков гороха в оптимальных условиях развития, в период закаливания и в условиях низкотемпературного стресса.

Выводы обоснованы, соответствуют поставленной цели и задачам.

Из незначительных замечаний можно отметить следующие:

1. В литературном обзоре на стр. 45 автор пишет, что «установлено, что суперкомpleксы могут влиять на направление потока электронов по различным альтернативным путям». На сегодняшний день это недоказанное предположение.

2. В тексте диссертации отсутствуют указания полного имени автора и года описания для упоминаемых видов.

3. Из описания методов остается непонятным, проводилась ли (и каким образом) нормализация относительного содержания изучаемых белковых комплексов, оцененного по оптической плотности электрофоретических полос.

4. В главе «Заключение» хотелось бы увидеть дополнительное описание либо имеющихся данных, либо гипотез о причинах распада суперкомплексов в условиях стресса и их обсуждение в сопоставлении с полученными результатами.

5. В заключительной схеме (рисунок 16) на стр. 120 диссертации данные по мягкому и жесткому стрессам объединяются в один рисунок под общим названием «стресс» в связи с большим сходством в стрессовых ответах системы окислительного фосфорилирования. Однако в реакции системы на эти стрессовые воздействия наблюдаются и различия, например, по изменениям в содержании и активности мегакомплекса, что стоило указать в подписи к рисунку.

Указанные замечания ни в коей мере не умаляют достоинств и значимости диссертации. Хотелось бы порекомендовать диссертанту в будущем постараться

публиковать столь интересные данные в журналах более высокого уровня, в первую очередь англоязычных.

В целом, диссертационная работа М.А. Кондаковой «Влияние гипотермии на состав и активность суперкомплексов системы окислительного фосфорилирования митохондрий проростков гороха *Pisum sativum* L.» соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым ВАК Минобразования и науки РФ к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук. Кондакова Марина Александровна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Директор Научно-исследовательского института  
биологии федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего  
профессионального образования «Иркутский  
государственный университет», доктор биологических  
наук по специальности 03.02.08 – экология (биология);  
664033, г. Иркутск, ул. Ленина, д. 3;  
телефон: +7(3952) 24-30-77;  
факс: +7(3952) 34-00-07;  
эл. почта: m.a.timofeyev@gmail.com

дата: 05.05.2017

Тимофеев Максим Анатольевич

Он зач. г.-д.н., доктора  
иена биологических ел. А. Г. Тимофеев  
заверено:

Ученый секретарь ФБОУ ВО, и.о. "ИГУ"  
Губанов -

