

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о соответствии диссертационной работы «Фотохромные реакции ретинальсодержащих белков – зрительного родопсина и бактериородопсина – в фемто- и пикосекундном диапазоне времен» Смитиенко Ольги Александровны профилю Диссертационного совета 24.1.038.01 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Комиссия в составе – д.б.н. Каламкарова Г. Р., д.б.н., проф. Пальминой Н. П. и д.х.н., проф. Шишкиной Л. Н. – констатирует, что диссертационная работа «Фотохромные реакции ретинальсодержащих белков – зрительного родопсина и бактериородопсина – в фемто- и пикосекундном диапазоне времен» по теме, постановке задач, методам исследования и полученным результатам соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (биологические науки).

Комиссия отмечает следующие **основные научные результаты** диссертационной работы и ее **новизну**:

Смитиенко О.А. проведено сравнительное исследование в фемто- и пикосекундном диапазоне времен фотохромной реакции двух ретинальсодержащих белков – бактериородопсина и зрительного родопсина как представителей групп микробных родопсинов и родопсинов животных, соответственно.

Предложены кинетические схемы прямой фотореакции исследованных белков и определено время наблюдаемых процессов. Показано, что время протекания прямой фотореакции зрительного родопсина и бактериородопсина составляет ~60 и 480 фс, соответственно.

Впервые исследована динамика обратной фотореакции зрительного родопсина, индуцированной на времени 200 фс из первого продукта прямой фотореакции, время протекания которой сравнимо с прямой реакцией.

Впервые показана возможность инициирования обратной фотореакции бактериородопсина на временах 1–5 пс из первичных продуктов прямой фотореакции.

Рассчитан квантовый выход обратной фотореакции зрительного родопсина и бактериородопсина, который составляет 0,15 и 0,81, соответственно.

Проведен сравнительный анализ фотохромной реакции бактериородопсина и зрительного родопсина как представителей родопсинов 1 и 2 типа, соответственно. Показано, что, в отличие от бактериородопсина, в зрительном родопсине квантовый выход обратной реакции значительно ниже, чем прямой реакции, что повышает надёжность работы зрительного родопсина как фоторецептора.

Степень достоверности полученных результатов.

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов обеспечивалась использованием общепринятых физико-химических методов исследования. При проведении данной работы были использованы современные методы выделения, очистки и исследования светочувствительных белков, их структуры и функциональной активности:

выделение зрительного родопсина из глаз быка методом центрифугирования в градиенте плотности сахарозы, стационарная спектрофотометрия, методы «возбуждение-зондирование» и «возбуждение-возбуждение-зондирование» фемтосекундной абсорбционной лазерной спектроскопии. Достоверность результатов обеспечивалась инструментальной и статистической оценкой погрешности измерений, а также согласованием полученных результатов с литературными данными.

Практическая и научная значимость результатов диссертационной работы.

Результаты исследования фотохромной реакции бактериородопсина и зрительного родопсина представляют, как теоретический, так и практический интерес с точки зрения определения механизма такого быстрого и эффективного процесса преобразования энергии света в химическую энергию конформационных перестроек белка, осуществляемого в наиболее типичных представителях родопсинов 1 и 2 типа для выполнения фотоэнергетической и фотоинформационной (зрительной) функций, соответственно. Понимание механизма фотохромной когерентной реакции ретинальсодержащих белков важно для такого активно развивающегося направления, как оптогенетика, в рамках которого в настоящее время используются родопсины, как 1, так и 2 типа. Явление фотохромизма ретинальсодержащих белков, продемонстрированное в настоящей работе на самых ранних стадиях их функционирования, может быть использовано в оптоэлектронике в различных технических приложениях, требующих создания оптических устройств с обработкой данных высокого быстродействия.

Результаты работы вошли в учебно-методическое пособие «Фотобиология и фотохимия первичных процессов зрения» для студентов биофизиков Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 12 печатных работах, в том числе в 6 статьях (5 публикаций в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, и 1 публикация в книге, индексируемой в базе Scopus) и в 6 тезисах в сборниках трудов научных конференций.

Список основных печатных работ:

- 1) **Smitienko, O. A.** Comparative femtosecond spectroscopy of primary photoreactions of *Exiguobacterium sibiricum* rhodopsin and *Halobacterium salinarum* bacteriorhodopsin / O. A. Smitienko, T. B. Feldman, L. E. Petrovskaya, O. V. Nekrasova, M. A. Yakovleva, I. V. Shelaev, F. E. Gostev, D. A. Cherepanov, I. B. Kolchugina, D. A. Dolgikh, V. A. Nadtochenko, M. P. Kirpichnikov, M. A. Ostrovsky // J. Phys. Chem. B. – 2021. – V. 125. – P. 995–1008.
- 2) Медведева, А. С. Сравнительное исследование фотохимии микробиальных родопсинов (I типа) и родопсинов животных (II типа) / А. С. Медведева, **О. А. Смитиенко**, Т. Б. Фельдман, М. А. Островский // Ж. эвол. биохим. и физиол. – 2020. – Т. 56. – № 7. – С. 519–523.
- 3) **Смитиенко, О. А.** Фемто и пикосекундная динамика первичных реакций рекомбинантного бактериородопсина в сравнении с природным белком в тримерном и мономерном состояниях / О. А. Смитиенко, О. В. Некрасова, А. В. Кудрявцев, М. А.

Яковлева, И. В. Шелаев, Ф. Е. Гостев, Д. А. Долгих, И. Б. Кольчугина, В. А. Надточенко, М. П. Кирпичников, Т. Б. Фельдман, М. А. Островский // Биохимия. – 2017. – Т. 82. – № 4. – С. 664–676.

- 4) Feldman, T. B. Femtosecond spectroscopic study of photochromic reactions of bacteriorhodopsin and visual rhodopsin / T. B. Feldman, **O. A. Smitienko**, I. V. Shelaev, F. E. Gostev, O. V. Nekrasova, D. A. Dolgikh, V. A. Nadtochenko, M. P. Kirpichnikov, M. A. Ostrovsky // J. Photochem. Photobiol. B. – 2016. – V. 164. – P. 296–305.
- 5) **Smitienko, O.** Coherent control of ultrafast reversible photoreaction of rhodopsin / O. Smitienko, V. Nadtochenko, T. Feldman, M. Balatskaya, I. Shelaev, F. Gostev, O. Sarkisov, M. Ostrovsky // In Book of Proceedings of the MSSMBS-2014 and DSCMBS-2014 International Workshops; Molecular Simulation Studies in Material and Biological Research. // Nova Science Publishers, Inc. (N.Y.). – 2015. – P. 29–36.
- 6) **Smitienko, O.** Femtosecond laser spectroscopy of the rhodopsin photochromic reaction: a concept for ultrafast optical molecular switch creation (ultrafast reversible photoreaction of rhodopsin) / O. Smitienko, V. Nadtochenko, T. Feldman, M. Balatskaya, I. Shelaev, F. Gostev, O. Sarkisov, M. Ostrovsky // Molecules. – 2014. – V. 19. – P. 18351–18366.

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «Положения о порядке присуждения ученых степеней (Утверждено Постановлением Правительства России от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства России от 21.04.2016 г. № 335 в редакции Постановления Правительства России от 20.03.2021 г. № 426).

Диссертация не содержит заимствованных материалов и результатов без ссылок на авторов и источники заимствования. В диссертации даны ссылки на результаты работ, выполненные Смитиенко О.А. в соавторстве с Островским М.А., Фельдман Т.Б., Саркисовым О.М., Надточенко В.А., Гостевым Ф.Е., Шелаевым И.В., Кирпичниковым М.П. и др.

Диссертация Смитиенко О.А. «Фотохромные реакции ретинальсодержащих белков – зрительного родопсина и бактериородопсина – в фемто- и пикосекундном диапазоне времен» отвечает требованиям, установленным пунктами 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Утверждено Постановлением Правительства России № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями Постановления Правительства России от 21.04.2016 г. № 335 в редакции Постановления Правительства России от 20.03.2021 г. № 426), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук.

На основании вышеизложенного комиссия рекомендует Диссертационному совету 24.1.038.01 принять к защите диссертационную работу Смитиенко О.А. «Фотохромные реакции ретинальсодержащих белков – зрительного родопсина и бактериородопсина – в фемто- и пикосекундном диапазоне времен» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве **официальных оппонентов**:

доктора биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика, профессора **Красновского Александра Александровича**, главного научного сотрудника лаборатории

физической биохимии Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук;

кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология **Борщевского Валентина Ивановича**, заместителя директора Центра исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»;

в качестве **ведущей организации** предлагается Федеральное государственное учреждение «Федеральный научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» Российской академии наук», Центр Фотохимии.

Председатель комиссии:

д.б.н.



Каламкаров Г. Р.

Члены комиссии:

д.б.н., профессор



Пальмина Н. П.

д.х.н., профессор



Шишкина Л.Н.