

О Т З Ы В

официального оппонента, профессора, доктора химических наук А.И.Усова о диссертации А.А.Петровой "Свойства тканеспецифичного рамногалактуронана I, обеспечивающие функционирование желатинозных волокон льна", представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Растительная клеточная стенка представляет собой весьма сложное образование, наделенное несколькими жизненно важными функциями. Стенка должна обладать прочностью, достаточной, чтобы обеспечить форму клетки, специфической проницаемостью для многочисленных метаболитов, способностью к деформации при росте клетки, к взаимодействиям с соседними клетками, быть барьером для проникновения в клетку патогенов и т.д. Выполнение этих многообразных функций возможно потому, что клеточная стенка построена как многокомпонентная система, состоящая главным образом из углеводных биополимеров, среди которых важнейшая роль отведена целлюлозным фибриллам и полисахаридам пектинового комплекса. В составе пектинов наибольшее значение имеют очень сложные высокоразветвленные полисахариды, рамногалактуронаны I (РГ-I), тонкое строение которых меняется в широких пределах в зависимости от их конкретной физиологической роли. Биохимия и физиология клеточных стенок растений в течение многих лет успешно изучаются в Лаборатории механизмов роста растительных клеток Казанского института биохимии и биофизики КНЦ РАН, и представленная диссертация А.А.Петровой является важной частью этих исследований. Работа посвящена изучению физико-химических свойств РГ-I желатинозных волокон льна в сравнении с аналогичными свойствами РГ-I другого происхождения.

Проблема объяснения многообразных функций растительных клеточных стенок является чрезвычайно актуальной. Выбор в качестве

главного объекта РГ-I желатинозных волокон льна в работе А.А.Петровой объясняется тем, что этот полисахарид умеют получать в Лаборатории, и первичная структура его достаточно хорошо известна. Однако в клеточной стенке РГ-I взаимодействует с другими компонентами системы с образованием надмолекулярных структур. Для их исследования знание первичной структуры полисахарида совершенно необходимо, но не достаточно. В задачу автора работы входил поиск физико-химических методов исследования, которые позволяли бы получать информацию о высших структурах изучаемых полисахаридов. Эту задачу удалось решить, и этот результат можно считать главной заслугой А.А.Петровой.

Диссертация начинается с введения, в котором обстоятельно изложены постановка проблемы и ее актуальность, цель и задачи исследований, научная новизна и научно-практическая значимость работы. Здесь же четко сформулированы положения, выносимые на защиту диссертации.

Далее следует обзор литературы, в котором описаны особенности клеточных стенок желатинозных волокон, охарактеризованы главные полисахариды этих клеточных стенок, изложены сведения о механических свойствах этих биополимеров, а также проблемы анализа физико-химических свойств полисахаридов и методические подходы к решению этих проблем, включая компьютерное моделирование структуры и свойств таких систем. Все части обзора имеют прямое отношение к выполненному А.А.Петровой экспериментальному исследованию и помогают оценить вклад автора в изучаемую проблему.

Техника собственных исследований автора работы изложена в разделе «Материалы и методы». Здесь с вполне удовлетворительной полнотой описаны методики выделения полисахаридов из растительного материала, их анализ и эксперименты по характеристике физико-химических свойств, а именно: получение и изучение деформации гелей, использование динамического светорассеяния, ИК и ЯМР-спектроскопии, ферментативного и химического расщепления РГ-I, компьютерное моделирование

межмолекулярных взаимодействий полисахаридов и статистическая обработка данных.

Содержание собственных исследований автора в разделе «Результаты исследований и обсуждение» представлено в виде трех крупных подразделов. Первый из них посвящен описанию гелеобразующей способности РГ-I и характеристике упруго-пластических свойств этих гелей. Следующий подраздел описывает явления, иллюстрирующие образование надмолекулярных структур РГ-I, а также спектральные различия и разницу в продуктах ферментативного и химического расщепления молекул РГ-I различного происхождения. В последнем подразделе описано компьютерное моделирование взаимодействия РГ-I с микрофибриллами целлюлозы в желатинозной клеточной стенке. Работа завершается заключением, выводами и списком цитированной литературы, насчитывающим 231 ссылку.

Обсуждая итоги проведенных исследований, нужно в первую очередь отметить, что для решения поставленных в диссертации задач, связанных с изучением надмолекулярных структур полисахаридов, необходимо было освоить подходящие физико-химические методы. Выбор таких методов можно признать удачным. В работе исследованы механические свойства гелей РГ-I, образование ассоциатов изучено с помощью светорассеяния, наличие в гелях прочно ассоциированных молекул воды доказано с помощью ИК-спектроскопии. Влияние величины молекулярной массы на проявление перечисленных свойств подтверждено с помощью избирательного ферментативного и щелочного расщепления полимерных молекул. Наиболее интересные и неожиданные результаты были получены при интерпретации спектров ЯМР полисахаридов, поскольку этим методом было установлено, что межмолекулярная ассоциация РГ-I происходит за счет объединения боковых галактановых цепей, а не участков центрального кора. Сравнительное исследование РГ-I разного происхождения показало, что существенные различия в свойствах этих полисахаридов до и после встраивания в клеточную стенку отражают изменение структуры и функции

клеточных стенок в процессе их созревания. Этот главный вывод работы изложен в виде наглядной красочной схемы, приведенной и в диссертации, и в автореферате. Можно заключить, что цель, сформулированная при постановке исследования, успешно достигнута автором в процессе выполнения работы.

Работа написана хорошим языком и тщательно оформлена. По содержанию и исполнению она не вызывает каких-либо серьезных замечаний, но некоторая критика все же может быть высказана.

1. Три образца РГ-I, которые используются в работе для сравнительного анализа, существенно различаются по свойствам. Нужно иметь в виду, что различаются и способы получения этих препаратов. Если РГ-I желатинозных волокон льна удастся выделить в достаточно мягких условиях, то встроенный в клеточную стенку РГ-I требует для своего выделения значительно более жесткой обработки, а способ получения коммерческого РГ-I клеточных стенок картофеля в работе вообще не описан. Отсюда следует, что на разницу в свойствах нативных образцов могут накладываться различия, возникающие за счет возможных модификаций структуры полисахаридов в процессе выделения.
2. Разницу в поведении полисахаридов автор связывает с различиями в построении кора и боковых цепей РГ-I. Однако есть еще два структурных параметра, способных существенно влиять на физико-химические свойства этих полисахаридов, а именно, степень этерификации (СЭ) карбоксильных групп остатков галактуроновой кислоты, особенно при высоких значениях СЭ, и природа катиона – при низких СЭ. Вероятно, следовало бы уделить внимание влиянию этих факторов в обсуждении результатов.
3. Автор не указывает, каким образом учитывалась склонность полисахаридов к межмолекулярной ассоциации при определении молекулярных масс методом гель-проникающей хроматографии.

4. Щелочную деградацию полисахаридов автор неточно называет гидролизом. Молекулы воды не принимают участия в этой реакции.
5. В тексте диссертации удалось заметить всего несколько опечаток. Хотя и редко, но встречаются неудачные выражения, в качестве примера можно привести формулировку одной из задач исследования (стр. 7 диссертации): 4. Построить компьютерную модель захвата рамногалактуронана I с установленными свойствами и параметрами латерально взаимодействующими микрофибриллами целлюлозы с учетом физиологических условий в клеточной стенке.

Высказанные замечания не влияют на общую очень высокую оценку работы. Автор выполнил крупное исследование в сложнейшей области изучения физико-химических свойств главного компонента пектиновых веществ клеточных стенок растений, рамногалактуронана I, так что высокая квалификация автора как специалиста в этой области не вызывает сомнений. Работа представляет собой вклад в методическую оснащенность исследований подобного рода, направленных на выяснение природы межмолекулярных взаимодействий полисахаридов. Автором продемонстрировано чрезвычайно эффективное использование спектроскопии ЯМР не только для традиционного определения первичных структур, но и для анализа высших структур полисахаридов, что является важным вкладом в развитие этой области биоорганической химии. Интересной новинкой является и опыт компьютерного моделирования процесса формирования третичной клеточной стенки с участием РГ-I и микрофибрилл целлюлозы. Результаты работы, несомненно, окажутся полезными и будут использоваться в научных учреждениях, где изучаются функции растительных клеточных стенок, а также структуры и свойства природных полисахаридов, включая возможности их практического применения.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают содержание диссертации. Следует подчеркнуть, что три экспериментальные

статьи, опубликованные автором по материалам диссертации, вышли в свет в высокорейтинговых международных журналах Carbohydrate Polymers и Биохимия. Чрезвычайно интересная и содержательная обзорная статья опубликована в 2015 году в журнале Известия АН, серия химическая.

Диссертационная работа **Петровой Анны Андреевны** по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне безусловно удовлетворяет требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842), а ее автор – **Петрова Анна Андреевна** заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности **03.01.05 – физиология и биохимия растений**.

Усов Анатолий Иванович



119991 Москва, Ленинский проспект, 47, ИОХ РАН

Телефон: 8(499)137-67-91

Адрес электронной почты usov@ioc.ac.ru

Наименование организации (полное/сокращенное): Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии имени Н.Д.Зелинского Российской академии наук (ИОХ РАН)

Подпись Усова Анатолия Ивановича заверяю

Ученый секретарь ИОХ РАН,

К.х.н. Коршевец Ирина Константиновна

04.12.2015 г.

