

Федеральное государственное учреждение
**«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»**

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 954-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru

2/xi-15, № 12304-6224

На № _____

УТВЕРЖДАЮ:



Директор
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»
чл.-корр. РАН
Попов В.О.
2/xi 2015 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» на
диссертационную работу Акулилкиной Д.В.
«Ассоциация светоиндуцируемых стрессовых HliA/HliB белков с фотосистемами клеток
цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803»

Диссертационная работа ««Ассоциация светоиндуцируемых стрессовых HliA/HliB белков с фотосистемами клеток цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803»» выполнена на базе лаборатории биоэнергетики Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». В период подготовки диссертационной работы соискатель Акулилкина Дарья Валерьевна исполняла обязанности младшего научного сотрудника.

В июле 2011 г. Акулилкина Д.В. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский государственный аграрный университет – Московскую сельскохозяйственную академию им. К.А. Тимирязева по специальности «Агроном», а в декабре 2011 г. поступила в очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук, где проходила обучение по июль 2015 г. С июля 2015 г. продолжила обучение в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано 9 апреля 2015 г. в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Учёного совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук (Протокол № 10 от 18 декабря 2014 г.).

Научный руководитель:

Юрина Надежда Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией биоэнергетики Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Подготовленная диссертационная работа Акулилкиной Д.В. была представлена 29 октября 2015 года на совместном семинаре лабораторий биоэнергетики и структурной биохимии белка Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

По итогам обсуждения принято следующее заключение.

Актуальность темы и направленность исследования.

Для нормального функционирования фотосинтезирующих организмов в условиях светового стресса в ходе эволюции возникли многочисленные защитные механизмы, в которых участвуют различные ферменты, неферментативные антиоксиданты и стрессовые (защитные) белки. Важную роль в защите фотосинтетического аппарата цианобактерий от деструкции играют светоиндуцируемые стрессовые белки HliP (high-light inducible proteins) или SCPs (small chlorophyll *a/b* Cab-like proteins). Эти белки, необходимые для выживания организмов в условиях высокой интенсивности света, обнаруживают сходство с хлорофилл *a/b*-связывающими белками светособирающих комплексов (Cab) растений и, по-видимому, являются их эволюционными предшественниками. Белки Hli локализованы в тилакоидной мембране, содержат одну трансмембранную спираль, хлорофилл-связывающий домен и характеризуются низкой молекулярной массой 6–10 кДа. Эти белки у цианобактерий кодируются светоиндуцируемыми генами *hli*, которые обнаружены во всех секвенированных к настоящему времени геномах цианобактерий; число копий генов *hli* зависит от вида и экотипа цианобактерий.

У цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803 идентифицированы пять белков Hli, четыре из которых представляют собой низкомолекулярные белки HliA/HliB, HliC/HliD; пятый белок является С-концевым фрагментом феррохелатазы. Гены, кодирующие HliA–HliD, индуцируются различными стрессовыми условиями, включающими не только свет высокой интенсивности, но и низкую температуру, а также голодание по источникам азота и серы, что затрудняет выяснение механизма индукции синтеза этих белков.

Особый интерес представляют два белка этого семейства – HliA и HliB, т.к. именно они являются особенно важными для выживания клеток *Synechocystis* в условиях светового стресса. Данные о связывании этих белков с хлорофилл-белковыми комплексами тилакоидных мембран цианобактерий разноречивы. Было показано, что

HliA и HliB у *Synechocystis* ассоциированы с тримерами, но не с мономерами фотосистемы 1 (ФС1), и необходимы для их стабилизации. С другой стороны, было обнаружено, что белки HliA и HliB *Synechocystis* связаны с белком CP47 фотосистемы 2 (ФС2), но не с ФС1. Сведения о связывании этих важных белков с хлорофилл-белковыми комплексами ФС1 тилакоидных мембран цианобактерий разноречивы.

Конкретное личное участие автора в получении научных результатов.

Представленные в диссертационной работе экспериментальные данные получены либо автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследований, включая планирование и проведения эксперимента, обработку, оформление и публикацию результатов. Обсуждение, обобщение и интерпретация некоторых экспериментальных данных, формулировка основных положений диссертации, составляющих ее новизну и практическую значимость, формирование цели, задач, выводов и обсуждение результатов проводилось совместно с научным руководителем.

Степень достоверности результатов проведенных соискателем учёной степени исследований.

Выводы, представленные в этой работе, полностью подтверждены экспериментальными данными. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Использованные методики исследования и проведенные расчеты корректны.

Новизна и ценность результатов, полученных лично автором в ходе научного исследования.

Проведенные исследования ассоциации HliA/HliB белков с фотосистемами цианобактерии с использованием мутантов, дефицитных по ФС2 и по обоим фотосистемам и не содержащим тримеров ФС1, впервые показали, что HliA/HliB белки ассоциированы не только с тримерами, но и с мономерами ФС1. Ассоциация HliA/HliB белков как с ФС1, так и с комплексом ФС2 указывает на универсальную роль этих белков в защите хлорофилл-белковых комплексов от светового стресса. Впервые было показано, что HliA/HliB белки синтезируются в клетках *Synechocystis*, не содержащих фотосистемы 1 и 2. Показано, что выращивание клеток в среде с глюкозой при низкой освещенности не влияет на ассоциацию HliA/HliB белков с хлорофилл-белковыми комплексами. Обнаружено, что отсутствие тримеров ФС1 не влияет на связывание HliA/HliB белков с мономерами ФС1 и комплексами ФС2. Модифицирована методика фракционирования хлорофилл-белковых комплексов тилакоидных мембран цианобактерий, подобраны более мягкие условия для выделения фотосистем.

Практическая значимость диссертации и использование полученных результатов.

Полученные в работе данные об ассоциации стрессовых свето-индуцируемых белков с мономерами и тримерами фотосистемы 1 и комплексом фотосистемы 2 предполагают универсальную роль этих белков в защите фотосинтетического аппарата от избыточного света. Исследование локализации стрессовых свето-индуцируемых белках имеет не только самостоятельный научный интерес, но и позволяет расширить представления о защитных функциях свето-индуцируемых Hli белков. Эти данные могут быть использованы для изучения регуляции процессов фотосинтеза, определяющего продуктивность сельскохозяйственных растений.

Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите.

Представленная Акулинкиной Дарьей Валерьевной диссертационная работа посвящена изучению ассоциации стресс-индуцируемых белков HliA/HliB с фотосистемами цианобактерии *Synechocystis* 6803. Работа соответствует специальности 03.01.04 Биохимия, по которой рекомендуется к защите.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем учёной степени.

По теме диссертации опубликовано 3 статьи, отражающих основной объем диссертационной работы. Основные результаты диссертационной работы изложены в 11 публикациях, в том числе в 3 статьях в изданиях, удовлетворяющих требованиям п. 13 «Положения о присуждении учёных степеней» утверждённого Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842, и перечню рецензируемых журналов ВАК РФ и 2 статьи в сборниках.

Список публикаций:

1. Юрина Н.П., **Мокерова Д.В.**, Одинцова М.С. Светоиндуцируемые стрессовые белки пластид фототрофов // Физиология растений. 2013. Т.60. №5. стр. 611–624.
2. Chankova S.G., Dimova E.G., Mitrovska Z., Miteva D., **Mokerova D.V.**, Yonova P.A., Yurina N.P. Antioxidant and HSP70B responses in *Chlamydomonas reinhardtii* genotypes with different resistance to oxidative stress // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2014. V.101. P.131–137.
3. **Акулинкина Д.В.**, Болычевцева Ю.В., Еланская И.В., Карапетян Н.В., Юрина Н.П. Ассоциация светоиндуцируемых стрессовых белков HliA/HliB с тримерами и мономерами фотосистемы 1 в клетках цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803 // Биохимия. 2015. Т.80. №10. стр. 1523-1532.
4. **Мокерова Д.В.**, Болычевцева Ю.В., Еланская И.В., Юрина Н.П., Карапетян Н.В. Стрессовые белки HliA/B *Synechocystis* PCC 6803: локализация в фотосистемах // Сборник статей. Международная научная конференция «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем», 2014, Минск, Беларусь, стр. 37-40.
5. **Akulinkina D.**, Yurina N. High-light inducible proteins HliA/HliB are essential for light stress-adaptation in cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803 // Seminar of ecology – 2015 with international participation. Proceedings, 23-24 April 2015. Sofia.

Результаты работы также были представлены на 4 международных и 2 всероссийских конференциях.

Считать диссертационную работу Акулинкиной Дарьи Валерьевны «Ассоциация светоиндуцируемых стрессовых HliA/HliB белков с фотосистемами клеток цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803» законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует профилю диссертационного совета Д 002.247.01 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Работа отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к

кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Рекомендовать диссертационному совету Д 002.247.01 по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» принять к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия диссертационную работу Акулилкиной Дарьи Валерьевны «Ассоциация светоиндуцируемых стрессовых HliA/HliB белков с фотосистемами клеток цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803» (научный руководитель д.б.н. проф. Юрина Н.П.).

Заключение принято на совместном семинаре лабораторий биоэнергетики и структурной биохимии белка Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» путём открытого голосования. Присутствовало на семинаре – 21 человек. Результаты голосования: «за» – 21 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет. Протокол №1 от «29» октября 2015 г.

Председатель

совместного семинара лабораторий

заведующий лабораторией структурной биохимии белка

д.б.н., проф.



/Левицкий Д.И./

Секретарь

совместного семинара лабораторий

научный сотрудник лаборатории

структурной биохимии белка

к.б.н.



/Еренина Т.Б. /