

# РЕЦЕНЗИЯ

относно дисертационен труд  
за придобиване на научната и образователна степен **“доктор”**  
по професионално направление 4.3 „Биологически науки“,  
Научна специалност “Биофизика”

Автор на дисертационния труд: **НИЯ ЗЛАТКОВА ПЕТРОВА**

Тема на дисертационния труд: **“Структурна стабилност и междумолекулни взаимодействия на основните светосъбиращи комплекси в тилакоидни мембрани на висши растения и цианобактерии”**

от **Василий Николаевич Голцев**, д-р, професор в катедра „Биофизика и радиобиология“, Биологически факултет на СУ “Св. Кл. Охридски”, пенсионер

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е посветен на изучаване на молекулните механизми на високотемпературната стабилност на основните пигмент-белтъчни комплекси, осъществяващи светосъбиращите функции във фотосинтетичния апарат (ФСА) на растенията.

Фотосинтезата е един от най-важните биоенергетични процеси в растителните клетки, осигуряващ улавянето на светлинната енергия и превръщането ѝ в други видове енергия, удобни за използването ѝ в растителната клетка за протичането на различни биологични процеси. За поддържането на най-ефективна работа в условията на непрекъсната промяна на условията на околната среда, ФСА на растенията трябва да е способен динамично да поддържа стационарното си състояние при колебания на осветеността и да запазва функционалността си в широк температурен диапазон. Светлинните кванти се абсорбират предимно от пигментите на светлина-събиращите комплекси, които насочват енергията на възбуждането към активните реакционни центрове на двете фотосистеми. Правилното им функциониране предопределя в крайна сметка и потока на енергията, запасявана във ФСА под други форми. Голямото разнообразие на структурните форми на пигмент-белтъчните комплекси, на тяхното взаимно разположение в тилакоидните мембрани, разположение спрямо реакционните центрове както и здравината на връзката им със супрамолекулните комплекси на Фотосистемите, позволява фина настройка на ФСА при промяна на условията на средата. От тази гледна точка темата на дисертационната работа е изключително

актуална тъй като дава допълнителна светлина за ролята на светлина-събиращите комплекси на ФС II за осигуряване на структурната стабилност на тилакоидните мембрани при вариации на условията на средата.

Дисертацията на Ния Петрова е написана на 114 страници, структурирана е стандартно и включва главите: Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и методи, Резултати, Дискусия, Изводи, Приноси, Научни публикации по темата на дисертационния труд, Използваната литература. Списъкът на използваната литература включва 223 източника. Приложен е и списък на публикациите на дисертантката и участията в научни форуми (в Автореферата).

В увода дисертантката аргументирано мотивира важността и необходимостта от провеждането на този тип изследвания, като подчерта изключителната роля на ССК2 не само за изпълнение на неговата основна функция да улавя светлинните кванти и да насочва енергията им към реакционните центрове, но и важността му като регулатор на работата на пигмент-белтъчните комплекси във ФСА.

Литературният обзор представя съвременните представи за при висшите растения и синьо-зелените водорасли. Основен акцент се поставя на подробно описание на пигмент белтъчните комплекси на двете фотосистеми и фикобилизоми. Тази глава демонстрира висока литературна осведоменост и теоретична подготовка на Ния Петрова не само по темата на дисертационния труд но и в различни аспекти на биофизиката. Тя разкрива изключително доброто познаване от дисертантката на структурата и тънките механизми на функционирането на ФСА. както и способността ѝ критично да оценява научната информация.

Целта на дисертационния труд е добре мотивирана и ясно и точно формулирана. Предвидените за разработка в дисертацията задачи също са формулирани ясно, но според мен се нуждаят от по-детайлна конкретизация.

В главата „Материали и методи“ авторката представя и детайлно описва широк спектър от експерименталните методи, използвани за анализа на структурни и функционални характеристики на ФСА и тилакоидните мембрани, като добре и ясно описва всеки от използваните методи и информационните възможности на избрания експериментален подход.

Значителен принос в успеха на проведеното изследване имат удачно избраните експериментални обекти – изолирани тилакоидни мембрани или цели листа на висшите растения (грах), отгледани при различни светлинни режими, и суспензии

от изолирани фикобилизоми или цели клетки на цианобактериите *Synechocystis* PCC6803 див тип и мутанти.

За структурното и функционалното характеризиране на ФСА в изолирани тилакоиди и фикобилизоми, цели клетки от цианобактерии и интактни листа на висши растения бяха избрани адекватни и високоинформативни физични методи:

- Спектрите на възбуждане на флуоресцентните маркери мероцианин 540 (MC540) и лаурдан – за определяне на флуидността и степента на опакованост на липидите в бислоя;
- Емисионните спектри на лаурдана – за изчисляване на общата поляризация, свидетелстващата за плътността на микрообкръжението на маркерната молекула;
- Диференциалната сканираща калориметрия (ДСК) – за определяне на термодинамични параметри, характеризиращи температурно-индуцирани фазови преходи в липиди и конформационни промени в белтъци и нуклеинови киселини;
- Кръгов дихроизъм (КД) на фотосинтетичните обекти, характеризиращ вътрешна асиметрия на пигментните молекули; екситонни взаимодействия между хлорофилни молекули и наличие на 3-D молекулни макроагрегати с размер съизмерим с дължината на вълната, съдържащи висок брой взаимодействащи помежду си хромофори;
- Вариабилна хлорофилна флуоресценция (JIP-тест), даваща информация за структурни и функционални характеристики на ФСА апарат (на-вече тилакоидните мембрани и електронният пренос в- и между двете фотосистеми);
- Динамика на фотоиндуцирания преход на хлорофилната флуоресценция в инхибирани с диурон тилакоидни мембрани – оценка на хетерогенността на антенните комплекси на ФС II;
- Емисионните спектри на нискотемпературната флуоресценция – оценка на спектрални форми на хлорофил белтъчните комплекси на ФС II и ФС I и пренос на енергията помежду им.

Всички методи са описани достатъчно подробно и могат да бъдат повторени от други изследователи. Експерименталните резултати са подложени на адекватна статистическа обработка.

Широкият спектър на прилаганите в дисертация експериментални подходи свидетелства за това, че Ния Петрова е усвоила съществен набор методически инструменти за успешно провеждане на задълбочени съвременни научни изследвания.

В главата „Резултати“ на дисертационния труд експерименталните резултати са представени в 7 таблици и 17 фигури. Изследванията са разделени в 2 логически групи според експерименталния обект:

- a. Роля на архитектурата на тилакоидните мембрани за термодинамичните свойства на ССК2 и функционалните характеристики на фотосинтетичния апарат на висши растения и
- b. Описание на термодинамични характеристики на фикобилизоми при *Synechocystis* PCC6803.

В първата група изследвания термодинамично са охарактеризирани ТМ, изолирани от растения, отгледани при умерен или слаб светлинен интензитет, и суспендирани в среди, осигуряващи формиране на различни граналните структури – интактните, наречени в дисертационния труд „стиковани“ (групирани) и „разстиковани“ (разгрупирани) тилакоиди. По този начин основната част от изследването е проведена върху 4 експериментални обекта. Авторката убедително демонстрира сложната връзка между структурната организация на тилакоидните мембрани при висши растения и различни фактори, такива като макроорганизацията на фотосинтетичните комплекси, термодинамичната стабилност ССК2 и физикохимичните свойства на липидната фаза на ТМ. Експерименталните доказателства, получени чрез различни методи показват, че промяната в микрообкръжението на ССК2 предизвикана от разстикването на тилакоидите, води до стабилизиране на тримерите и мономерите на ССК2. Това може да бъде базирано върху специфични белтък-белтъчни взаимодействия при агрегирането на ССК2 или образуването на ССК2-ФС1 комплекс. От друга страна стабилизирането на ССК2 се съпровожда с формиране на по-рехава организация на липидният матрикс в ТМ.

В дисертационната работа са представени убедителни резултати, доказващи, че структурните промени в ТМ, предизвиквани от разгрупирването на тилакоидите водят до драстични изменения както на разпределение на енергийните потоци в антенните комплекси на двете фотосистеми, така и ефективността на електронния транспорт между тях.

Втората част на изследвания са посветени на анализа на структурната стабилност на изолирани фикобилизоми и цели интактни клетки *Synechocystis* PCC6803 от див тип и мутанта СК.

В раздела „Дискусия“ получените в дисертационната работа експериментални резултати са подложени на задълбочен анализ в светлина на хипотезата за глобалната роля на ССК2 като компонент, интегриращ и съгласуващ работата на пигмент-белтъчните комплекси. Разгледана е ролята макроорганизацията на тилакоидните мембрани и междумолекулните взаимодействия с участие на ССК2 в ТМ на висшите растения и фикобилизомите при цианиобактериите за адаптационни механизми реализирани във ФСА.

Накрая са формулирани 7 извода и 4 научни и методични приноса на дисертацията.

Приносите, включени в дисертацията и автореферата са лично дело на докторанта и имат както оригинален теоретичен, така и методичен характер. Основно те могат да се обобщят в следните направления:

1. Разработен е експериментален подход и са подбрани подходящи информативни методи за детайлен анализ на факторите, определящи термостабилността на ССК2 и нейната зависимост от архитектурата на ТМ. Показано е значението на протеин-протеиновите и протеин-липидните взаимодействия за термодинамичната стабилност на ССК2.
2. Демонстрирана е корелация между степента на стиковане на тилакоидните мембрани, контролирана от условията на осветяване по време на отглеждане на растенията, и температурната стабилност на ССК2.
3. За пръв път е изследвана кинетичната стабилност на ССК2, в нативно мембранно обкръжение, в две функционални състояния – светосъбиращо и фотозащитно.
4. Чрез сравнение на термодинамичните профили на интактни изолирани фикобилизоми с тези на цели клетки от див тип и мутанти на *Synechocystis* е идентифициран термодинамичен преход, отразяващ денатурацията на фикобилизомите.
5. Доказана е приложимостта на ДСК, като метод за оценка на структурната цялост на фикобилизомите в цели клетки *Synechocystis* див тип и негови мутанти.

Основните резултати, изводи и приноси на дисертационния труд са отразени в 3 статии, публикувани в реномирани международни списания: *Photosynthesis Research* с ИФ 3.057, Q1, *J. Bioenergetics and Biomembranes*, ИФ 2.548, Q2 и *Acta Physiologiae Plantarum*, ИФ 1.608, Q2, което демонстрира високото ниво на проведените изследвания и значимостта на получените резултати. Проведените от дисертантката изследвания са известни на научната общественост, като двете публикации от 2018 г са цитирани: едната – в международното списание *Biochemical Journal*, а другата – в докторска дисертация, защитена в Научния Център в Сегед. Във всички представени публикации Ния Петрова е първи автор, което демонстрира нейният съществен принос на всички етапи на експерименталната работа, както и при подготовка и написването на публикациите. Всичките резултати от дисертацията са представени и дискутирани на 8 национални и международни научни форуми.

Познавайки работата на Ния Петрова и анализирайки представените от нея материали и публикации, считам, че дисертационния труд е нейно лично дело, осъществено под ръководство на нейните научен ръководител и консултант.

Общото впечатление при прочитането на дисертационната работа е много добро. Тя е написана много ясно и компетентно, с точно и на място цитиране на важните литературни източници, резултатите са добре илюстрирани и статистически доказани. Имайки предвид положителните качества на дисертационния труд, базирайки се на личните ми впечатления от дисертантката, както и факта, че е преминала през сериозната школа на изтъкнатите специалисти в международна лаборатория в Сегед, Унгария и обучителни курсове в Сао Паоло, Бразилия и Венеция, Италия, се формира моето мнение, че Ния Петрова притежава висока квалификация в областите на биофизиката на фотосинтезата и биофизика на мембраните и заслужава цялостна най-висока оценка за извършената по време на докторантурата работа.

## **Заклучение**

Представената за рецензиране дисертация за придобиване на научната и образователната степен “доктор” е сериозен, задълбочен и изпълнен на високо научно и методично ниво труд, който напълно отговаря на изискванията за тази степен. Той е посветен на важен и актуален научен проблем, като считам, че поставените от дисертанта цел и задачи на изследване са постигнати.

Работата има приноси в научната област „Биофизика”, а дисертантката притежава широка ерудиция и висока квалификация, както и е овладяла значителен брой експериментални методи в областта на Биофизика на фотосинтезата, Биофизика на мембраните. Всичко това ми дава основание убедено да смятам, че Ния Петрова е изграден учен в областта на Биофизиката и да подкрепя присъждането ѝ на научната и образователната степен „доктор”.

25 февруари 2020 г.

С О Ф И Я

Член на научното жури по конкурса:

.....

Проф. д-р Василий Голцев,  
Катедра Биофизика и радиобиология  
при БФ на СУ „Св.Кл. Охридски”