

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лапшина Никиты Константиновича, «Роль мембранных стеринов в регуляции активности  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы клеток растений», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21- физиология и биохимия растений

Диссертационная работа Лапшина Н. К. посвящена изучению распределения в мембране и регуляции активности протонной АТФазы плазмалеммы растений.  $H^+$ -АТФаза плазматической мембраны растений обеспечивает создание протонного градиента на мембране, который является источником энергии для различных систем вторичного транспорта, по этой причине изучение свойств этого фермента представляет теоретическую ценность. Кроме того, результаты таких исследований могут иметь практическую значимость, поскольку понимание функционирования транспортных систем клетки растений позволит разработать подходы к регуляции всасывания различных ионов растениями. Таким образом, выполненное диссертантом исследование, безусловно, актуально, и имеет как теоретическое, так и практическое значение

Необходимо отметить, что в процессе работы над диссертацией Лапшин Н. К. освоил большое количество современных биохимических методов, используемых в работе с мембранными ферментами. Среди этих методов дифференциальное центрифугирование, определение активности  $H^+$ -АТФазы с использованием АТФ-регенерирующей системы, регистрация транспорта протона с применением красителя, определение трансмембранного потенциала, нативный электрофорез, Вестерн-блот анализ. Это свидетельствует о высокой методической подготовленности диссертанта.


В результате проведенной диссертантом работы показано, что  $H^+$ -АТФаза присутствует как в несолубилизированной детергентом метил- $\beta$ -циклодекстрином фракции, соответствующей рафтам, так и в остальной части мембраны, причем ее распределение не изменяется при экстракции стеринов из мембраны. Кроме того, удаление стеринов с использованием метил- $\beta$ -циклодекстрином увеличивало максимальную скорость работы фермента. Тот факт, что додецил мальтозид, не удаляющий аннулярные липиды, также увеличивал максимальную скорость работы фермента, позволил автору сделать вывод, что стерины выступают в роли аннулярного липидного окружения.

С моей точки зрения полученные данные желательно подтвердить иным способом, в частности, выяснить есть ли стерины в окружении полностью солубилизированной  $H^+$ -АТФазы и взаимодействуют ли они с ферментом. Подобную работу можно выполнить,

например, с использованием метода FRET с флуоресцентно меченой  $H^+$ -АТФазой и флуоресцентно мечеными стеринами. Кроме того, нельзя исключить, что активация  $H^+$ -АТФазы может быть вызвана непосредственно действием детергентов, снижающих микровязкость аннулярного слоя смеси липидов и детергента, окружающего фермент.

Невзирая на сделанные замечания, реферат диссертационной работы свидетельствует, что диссертация Лапшина Никиты Константиновича представляет собой хорошее, грамотно выполненное исследование, соответствующее требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, представляемым для защиты на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21- физиология и биохимия растений, а Лапшин Никита Константинович заслуживает присуждения искомой степени.

Ведущий научный сотрудник  
кафедры биохимии биологического факультета МГУ  
им. М.В. Ломоносова, д.б.н., профессор



Лопина О.Д.

Почтовый адрес: 119234, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12  
Телефон: +7-495-939-39-55



ПОДПИСЬ РУКИ *Лопина О.Д.*  
ЗАВЕРЯЮ

Документовед биологического факультета МГУ

