

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук Кусочека Павла Александровича на тему: «Моделирование механизмов первичных фотохимических реакций и фотоиндуцированной динамики ретиналь-содержащих белков» по специальности 1.4.4 – «Физическая химия»

Фотоизомеризация хромофорной группы ретиналь-содержащих белков – один из самых быстрых и эффективных биохимических процессов. Понимание роли белкового окружения в механизме этой реакции важно как с фундаментальной точки зрения, так и для создания биомиметиков, способных поглощать и преобразовывать энергию электромагнитного излучения с высокой эффективностью. Диссертационная работа Кусочека П.А. посвящена теоретическому исследованию механизма указанной реакции в белковом окружении родопсинов I и II типов, а также в газовой фазе. В родопсинах животных (тип II) 11-*цис* изомер хромофорной группы при поглощении фотона переходит в полностью *транс*-форму, а в микробиальных родопсинах (тип I) полностью *транс*-изомер превращается в 13-*цис* форму. Квантовые выходы реакций фотоизомеризации в родопсинах I и II типов сопоставимы, но скорость фотоизомеризации родопсина II в несколько раз больше. Ранее это отличие в скорости связывали с 11-*цис* изомером хромофорной группы. Однако недавно был открыт микробиальный родопсин KR2, не уступающий по скорости фотоизомеризации родопсинам II типа. Этот факт требует пересмотра концепции, в которой различие изомерного состава хромофорных групп рассматривается в качестве основной причины разницы скоростей фотоизомеризации родопсинов I и II. Поэтому диссертационная работа Кусочека П.А. является своевременной, **актуальной и значимой.**

Применение современной многоконfigurационной квазивырожденной теории возмущений для моделирования фотофизических и фотохимических

свойств больших биомолекулярных систем позволило Кусочеку П.А. подойти к решению этой задачи и исследовать поверхности потенциальной энергии электронно-возбужденных состояний протонированного основания Шиффа ретиналя и его модификаций на качественно новом уровне. Причем рассмотрение ведется как в изолированном состоянии, так и в белковом окружении. Результаты работы являются наиболее точными на сегодняшний день и пригодны для использования в качестве реперных при сравнении с результатами, полученными другими методами.

Диссертационная работа изложена на 150 страницах машинописного текста, содержит 50 рисунков, 10 таблиц, 2 приложения. Список литературы включает 194 наименования. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, расчетной части, обсуждения результатов, выводов, списка принятых сокращений, списка цитируемой литературы и приложений.

Во **введении** обоснована актуальность, новизна и оригинальность темы диссертационной работы, перечислены объекты исследования, описаны цель и задачи работы.

Литературный обзор (**глава 1**), содержит три части. В первой из них рассмотрены характеристики фотоциклов родопсинов, изучаемых в диссертационной работе. Во второй части обзора подробно рассмотрено влияние окружения на спектральные и фотофизические свойства хромофорной группы. Проанализированы экспериментальные и теоретические работы, изучающие динамику реакции фотоизомеризации в белках, а также работы по моделированию неадиабатической динамики фотоизомеризации, в которых оценивалось влияние разных факторов на скорость и квантовый выход фотоизомеризации.

В третьей части литературного обзора подробно описаны методы квантовой химии, использованные в ходе проведения диссертационного исследования. Разобран метод потенциалов эффективных фрагментов (EFP), в котором ММ подсистема аппроксимируется как совокупность эффективных

фрагментов, создающих потенциал, действующих на квантовую подсистему. Метод позволяет учитывать влияние среды на фотофизические свойства хромофора в различных родопсинах и использовался на всех стадиях расчетов в белковом окружении. Рассмотрен метод CASSCF, применявшийся при расчете свойств протонированного основания Шиффа ретиналя. Изложены основы метода многоконфигурационной квазивырожденной теории возмущений XMCQDPT2, используемого в расчете фотофизических характеристик хромофора в газовой фазе и в белковом окружении.

Во **второй главе** диссертации даны детали и результаты всех выполненных расчетов. Описаны расчеты изомеров хромофора и его модифицированных форм в газовой фазе. Приведены параметры усреднения по состояниям, описаны размер и методология выбора активного пространства метода CASSCF и содержание эффективного гамильтониана XMCQDPT2. Затем соискатель сосредотачивается на методике проведения расчетов в белковом окружении. Приведены параметры молекулярно-динамического моделирования. Подробно объяснена процедура оптимизации геометрии молекулы комбинированным методом КМ/ММ. Охарактеризованы размер и состав квантовой подсистемы каждого из рассматриваемых белков. Изложена методика получения КМ/ММ оптимизированных структур активных центров, приведены параметры расчета фотофизических свойств хромофора в белковом окружении методом XMCQDPT2/SA-CASSCF(12,12)/(aug)-cc-pVDZ в сочетании с методом EFP.

В **Главе 3**, основной в работе, излагаются и обсуждаются полученные результаты. Первая часть главы посвящена расчету свойств изомеров протонированного основания Шиффа ретиналя в газовой фазе. Соискателем рассчитаны сечения поверхности потенциальной энергии возбужденного состояния при вращении вокруг двойных связей для полностью *транс* и *цис* изомеров хромофорной группы при помощи высокоточного неэмпирического метода XMCQDPT2. Проведен расчет констант скорости

фотоизомеризации вокруг определенной двойной связи в рамках теории активированного комплекса.

Во второй части 3-й главы рассмотрены фотохимические свойства модифицированных форм протонированного основания Шиффа ретиналя. Подчеркнем, что соискатель рассматривает как модификацию, не затрагивающую сопряженную полиеновую цепь, так и модификацию, препятствующую наиболее выгодному вращению по центральной двойной связи.

Рассчитав фотохимические свойства изомеров хромофорной группы и их модифицированных форм в газовой фазе и получив на их основе референсную систему сравнения, Кусочек П.А. переходит к рассмотрению фотофизических свойств протонированного основания Шиффа ретиналя в белковом окружении родопсинов I и II типов. В работе проведены расчеты электронно-колебательных спектров ретиналя в активных центрах различных родопсинов с геометрией, оптимизированной с помощью метода КМ/ММ. Моделирование спектров проведено в модели линейной связи в гармоническом приближении. Для оценки активности колебательных мод при электронном переходе рассчитаны факторы Хуанга-Рис.

Завершая обсуждение результатов, соискатель рассмотрел актуальный вопрос происхождения нереакционноспособных состояний в недавно открытом микробиальном родопсине KR2, используя различные методы молекулярного моделирования, результаты которых дополняют друг друга.

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, **являются новыми и оригинальными.**

1. Получены наиболее точные оценки средних времен жизни возбужденных состояний различных изомеров ретиналя в изолированном состоянии, которые позволяют интерпретировать экспериментальные данные время-разрешенной фемтосекундной спектроскопии. Эти результаты приводят к выводу о том, что белковое окружение, в особенности, микробиальных

родопсинов, существенно влияет на скорость и специфичность реакции фотоизомеризации полностью *транс*-изомера ретиналя.

2. Впервые предложен модифицированный аналог полностью *транс*-изомера ретиналя, среднее время жизни которого в возбужденном состоянии на порядок меньше, чем у немодифицированного хромофора. Таким образом, продемонстрирована возможность управлять фотоиндуцированной динамикой ретиналя путем направленных химических модификаций.
3. Впервые на основе квантово-химического метода высокого уровня точности проведено исследование фотоиндуцированной динамики на ранних временах хромофорных групп в родопсинах I и II типов. Показано, что в белковом окружении родопсинов обоих типов, как и в случае модифицированного аналога ретиналя в газовой фазе, скручивание полиеновой цепи ретиналя по определенной двойной связи приводит к возбуждению при электронном переходе именно тех колебательных мод, которые способствуют изомеризации по этой связи. Наиболее эффективное возбуждение внеплоскостных колебательных мод наблюдается в родопсинах как I, так и II типа, которые обладают общим структурным мотивом активного центра: в них присутствует водородная связь между протонированным основанием Шиффа ретиналя и его первичным противоионом.
4. Впервые показано, что активный центр родопсина KR2 в основном электронном состоянии является структурно гетерогенным. При этом наличие нескольких конформаций позволяет объяснить природу реакционноспособных и нереакционноспособных состояний данного родопсина.

Полученные результаты являются новыми и представляют интерес для специалистов по фотохимии, биохимии, молекулярной спектроскопии. Они могут быть рекомендованы к использованию в Центре фотохимии РАН,

ИХФ РАН, ИПХФ РАН, химических и биологических факультетах МГУ, СПбГУ, НГУ, ДВФУ, ИвГУ.

Результаты диссертации являются обоснованными и достоверными, так как получены с использованием высокоточных неэмпирических методов квантовой химии, таких как комбинированный метод КМ/ММ и многоконфигурационная квазивырожденная теория возмущений ХМСQDPT2.

Достоверность результатов подтверждена путем сравнения с экспериментальными данными. Так, результаты расчетов средних времен жизни различных форм ретиналя в первом синглетном электронно-возбужденном состоянии в газовой фазе при разных температурах полностью соответствуют экспериментальным данным по фемтосекундной спектроскопии с временным разрешением.

Соответствие рассчитанных и экспериментальных частот колебаний хромофора в белковом окружении подтверждает высокое качество и надежность построенных полных атомистических моделей изученных родопсинов.

Представленная диссертационная работа обладает высокой **теоретической и практической значимостью**. Результаты работы представляют фундаментальный интерес для понимания механизмов сверхбыстрых фотохимических реакций, а разработанная методология расчета фотофизических и фотохимических свойств родопсинов обладает важным прикладным потенциалом для направленного создания модифицированных родопсинов с заданными свойствами.

Основное содержание работы в полной мере изложено в **9 публикациях**: из них 4 статьи в международных рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по

специальности 1.4.4 – «Физическая химия», и 5 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Автореферат и опубликованные статьи правильно передают основные научные положения, результаты и выводы, приведенные в диссертации.

По диссертационной работе имеется ряд **вопросов и замечаний**:

1. Для расчета фотофизических характеристик хромофора в газовой фазе и в белковом окружении в работе применен метод многоконфигурационной квазивыврожденной теории возмущений XMCQDPT2. Как и любой метод теории возмущений, он может давать невариационное решение задачи. Как эта проблема учитывалась в диссертации?
2. В работе декларируется достижение максимальной доступной точности расчета больших биомолекулярных систем. Это утверждение следовало бы подкрепить численными оценками точности результатов.
3. Карты разностной электронной плотности состояний (рис. 34, 45-50) не снабжены указанием положительных и отрицательных значений функций.
4. По каким критериям выбиралось число состояний в процедуре усреднения в методе CASSCF, варьиовавшееся при расчетах различных систем?

Высказанные вопросы и замечания не снижают позитивной оценки диссертационного исследования.

Соответствие автореферата и диссертации требованиям, установленным МГУ имени М.В. Ломоносова.

Диссертационная работа Кусочка Павла Александровича является законченной целостной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа по своей актуальности и новизне, теоретической и практической значимости отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.4.4 – «Физическая химия» (по физико-математическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете

имени М.В. Ломоносова. Работа оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Автор диссертации Кусочек Павел Александрович безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.4.4 – «Физическая химия».

Официальный оппонент:

доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой квантовой химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева", Заслуженный деятель науки Российской Федерации

Цирельсон Владимир Григорьевич

В
V
1

«15» сентября 2022 г.

Контактные данные:

Тел.: +7 (499) 978-95-84,

E-mail: tsirelson.v.g@muctr.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена докторская диссертация:

01.04.17 - Химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества

Адрес места работы:

125047, г. Москва, Миусская площадь, д.9

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева", кафедра квантовой химии

Подпись профессора Цирельсона В.Г.



«15» сентября 2022 г.