

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Татьяны Сергеевны ЮРЧЕНКО «РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН ФОРМИАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ *Staphylococcus aureus*», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.5.4 Биохимия и 1.5.6. Биотехнология.

Диссертационная работа Т.С. Юрченко посвящена актуальной теме - поиску способов изменения свойств ферментов. Особенность представленной работы заключается в удивительно гармоничном сочетании фундаментальных энзимологических исследований и прикладных биотехнологических аспектов. Особо хотелось бы отметить, что приятно наблюдать успешное развитие исследований формиатдегидрогеназы, которые в этой лаборатории привели к получению фермента с измененной специфичностью кофактора. Такая работа в свое время получила вполне заслуженное признание у известных энзимологов как у нас в стране, так и за рубежом. Удачное продолжение таких исследований в данной работе позволило получить интересные биокатализаторы, пригодные для практического применения.

Судя по приведенным в автореферате данным, а также по опубликованным журнальным статьям и тезисам докладов, Т.С. Юрченко проведена большая, кропотливая работа. Особо следует отметить хорошие публикации диссертанта - все 5 статей опубликованы в престижных отечественных и зарубежных изданиях, рекомендованных ВАК РФ: «Биохимия», «Вестник МГУ», «Биотехнология» и «Biochemie». Работа также была широко представлена на ведущих отечественных и международных конференциях.

Знакомство с диссертационной работой указывает на очень большой объем экспериментальных исследований. Автором было получено много мутантных форм формиатдегидрогеназы с грамотно внесенными точечными мутациями. Особо хотелось бы отметить, что мутантные формы фермента были выделены с помощью традиционных энзимологических методов - фракционирование сульфатом аммония и хроматография. Авторы не использовали никаких «тэгов», облегчающих выделение белков, но, одновременно вызывающих загрязнение препаратов неправильно свернутыми или частично деградированными белками. Возможно, что именно этим объясняется получение

фермента с высокой каталитической активностью как у нативных, так и у мутантных форм. Интересен раздел, касающийся анализа причин получения укороченной формы формиатдегидрогеназы при экспрессии полноразмерного гена *Saufdh*. Однако следовало бы более четко написать, что именно происходит с белком, а не просто писать «посттрансляционная модификация». Только разделе «Положения, выносимые на защиту», сказано, что происходит протеолиз по 34 остатку метионина.

Кропотливая работа была проведена для того, чтобы подобрать условия для снижения константы Михаэлиса по NAD^+ в 1,5 раза просто за счет подбора подходящего четырехкомпонентного буфера. Такой прием позволяет увеличить существенно эффективность формиатдегидрогеназы без применения более сложных приемов.

Естественно, что наиболее интересный раздел, в том числе и для фундаментальной энзимологии, касается изменения свойств формиатдегидрогеназы с помощью рационального дизайна. Удачное соединение виртуального и экспериментального подходов позволило автору получить несколько мутантных форм формиатдегидрогеназы с оптимальными для биокатализа свойствами, а также глубже понять молекулярные механизмы функционирования этого фермента. Так, точечные замены V119A или F194V привели к снижению K_M по отношению к кофактору в 2,5-4 раза без существенных изменений k_{cat} . Отдельно можно выделить разработку методики, позволившей получить образцы формиатдегидрогеназы, содержащие изотопные метки 2H, 13C, 15N. Выход меченого фермента был достаточно высоким, что позволит в дальнейшем использовать эти препараты для изучения взаимодействия фермента с различными лигандами, в том числе с ингибиторами фермента, которые автор предполагает использовать в качестве антибиотиков.

На основании рассмотренного автореферата можно сделать вывод, что диссертационная работа Татьяны Сергеевны Юрченко «Рациональный дизайн формиатдегидрогеназы из *Staphylococcus aureus*», представляет собой законченное исследование, результаты которого опубликованы в 5 статьях в престижных журналах, а также в тезисах докладов. По актуальности темы, новизне полученных данных, теоретической и практической значимости, высокому методическому уровню диссертационная работа Т.С. Юрченко удовлетворяет всем требованиям п.п.9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (в действующей редакции), а ее автор заслуживает присуждения учёной

степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4 Биохимия и 1.5.6. Биотехнология.

Я, Владимир Израилевич Муронец, настоящим даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН и в федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело соискателя и дальнейшую обработку.

Доктор биологических наук, профессор,

заведующий отделом биохимии животной клетки Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,

Контактные данные:

Адрес: Москва, 119992, Ленинские горы, дом 1, строение 40,

рабочий e-mail: vimuronets@belozersky.msu.ru

рабочий телефон: +7(495) 939-14-56,

Специальность, по которой В.И. Муронцом была защищена докторская диссертация:
03.01.04 (1.5.4) – «Биохимия»

Владимир Израилевич Муронец



11 октября 2024 г.

Подпись В.И. Муронца заверяю

и.о. директора

научно-исследовательского института

физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского

Московского государственного университета

имени М.В. Ломоносова

член-корреспондент РАН

 П.В. Сергиев

