

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 Юрченко Татьяны Сергеевны посвящена исследованию взаимосвязи структура-функция формиатдегидрогеназы (ФДГ) из патогенного микроорганизма *Staphylococcus aureus*. Проблема является актуальной, поскольку *S. aureus* являются одним из опаснейших патогенов современности, а ФДГ является crucialным ферментом для выживания патогена в виде биопленок. Кроме того, ФДГ используется в синтезе оптически активных соединений – исходных соединений для получения лекарственных препаратов с хиральным центром. Использование систем регенерации никотинамидных кофакторов на основе формиатдегидрогеназы уже стало традиционным. В связи с чем, по-прежнему ведутся поиски перспективных биокатализаторов. В их числе – формиатдегидрогеназа из *Staphylococcus aureus* по причине высоких термостабильности и каталитической константы k_{cat} этого фермента.

Автором была проведена большая экспериментальная работа. Хотелось бы отметить, что каждый из разделов рассматривает формиатдегидрогеназу из *S. aureus* с различных сторон. В первом разделе рассматривается влияние N-концевой аминокислотной последовательности на уровень экспрессии и каталитические свойства. Впервые показано что пост-трансляционная модификация по положению Met34 приводит к экспрессии укороченной на 33 аминокислотных остатка формы белка из полноразмерного гена *Saufdh*. В разделе, посвященном влиянию концентрации и составу реакционной среды на каталитические свойства, показана положительное влияние комбинированного буфера. Удалось снизить значение константы Михаэлиса по NAD^+ без внесения изменений в аминокислотной последовательности. В рамках раздела, посвященному белковой инженерии активного центра фермента были получены 25 различных мутантных формы ФДГ, содержащих от одной до шести аминокислотных замен. Выбор положений для замен проводился на основе анализа выравнивания аминокислотных последовательностей ФДГ из разных источников и структуры холо-формы ФДГ. Были предложены замены в областях каталитически важных участков активного центра. Мутантные ферменты были экспрессированы в клетках *E. coli*, выделены в высокоочищенном виде и охарактеризованы по каталитическим параметрам и по термостабильности. Были получены мутантные формы с улучшенными кинетическими параметрами. Особенно следует отметить роль замен

F194V и V119A. В данной работе также поднимается проблема борьбы с био пленками патогенных бактерий *S. aureus* в условиях повышенной антибиотикорезистентности. В качестве потенциальной мишени предлагается рассматривать формиатдегидрогеназу как ключевой фермент жизнедеятельности микроорганизмов при неблагоприятных условиях. Для этого автором были получены высоко изотопномеченные ^{13}C , ^{15}N и ^2H образцы SauФДГ, которые были использованы для снятия ЯМР-спектров.

Цели и задачи, сформулированные в работе, были достигнуты. Выводы обоснованы и логично вытекают из результатов проделанной работы. Полученные результаты опубликованы 5 статьях в российских и международных журналах, рекомендуемых ВАК, а также представлены на всероссийских и международных конференциях и симпозиумах.

По актуальности темы, объему полученного материала, теоретической и практической значимости результатов диссертационная работа Юрченко Татьяны Сергеевны «Рациональный дизайн формиатдегидрогеназы из *Staphylococcus aureus*» 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 специальностям 1.5.4. Биохимия и 1.5.6. Биотехнология.

Я, Сидоренко Сергей Владимирович, 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.

Сидоренко Сергей Владимирович



Доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН

Заведующий научно-исследовательским отделом, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9, рабочий телефон: +7(812) 234-57-59, рабочий e-mail: sidorserg@niidi.ru.

Подпись С.В. Сидоренко заверяю



Подпись руки *С.В. Сидоренко*
Удостоверяю *16.10.2024*
Зав. канцелярией *Егорова Л.Я.*

__16__ октября 2024 г.