

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Владимира Израилевича Муронца на диссертацию Натальи Сергеевны Плехановой «ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ N^ε-АЦЕТИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ НА РЕГУЛЯЦИЮ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОТОКОВ В *ESCHERICHIA COLI* ШТАММАХ-ПРОДУЦЕНТАХ АМИНОКИСЛОТ», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология

Актуальность диссертации Н.С. Плехановой не вызывает никаких сомнений, поскольку любая информация о новых способах увеличения продукции аминокислот специальными штаммами микроорганизмов чрезвычайно важна. При этом, хотя практическое значение проведенного исследования очевидно, не менее интересны фундаментальные наблюдения, которых довольно много в представленной диссертации. Именно эти результаты, касающиеся влияния ацетилирования на свойства глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы наиболее интересны мне, как специалисту в области энзимологии. Удивительно как много новой информации получено в работе об изменении каталитических характеристик глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, столь казалось бы досконально исследованной, при ее модификации по лизиновым остаткам. Таким образом, хотелось бы особо отметить весьма удачное сочетание прикладных и фундаментальных аспектов в анализируемой работе.

Диссертационная работа Н.С. Плехановой построена по традиционной схеме и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть (материалы и методы исследования), результаты исследований и их обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы. Работа изложена на 129 страницах текста и хорошо иллюстрирована 15 рисунками и 14 таблицами. Список литературы включает 220 источников на русском и английском языках.

Во введении автор хорошо раскрывает актуальность исследования, его новизну и научную значимость. В обзоре литературы, состоящем из 4 глав, подробно разобраны способы производства аминокислот, особенности штаммов *E.coli*, используемых в биотехнологических процессах, роль ацетилирования белков в регуляции клеточного метаболизма и подходы к минимизации образования ацетата при культивировании микроорганизмов. Обзор написан хорошо и обстоятельно, его интересно читать. Хорошо, что затронуты некоторые исторические аспекты затрагиваемых вопросов. Приятно видеть, что кто-то еще помнит, что гликолиз когда-то называли «путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса», тем более, что Якуб Парнас был основателем целого биохимического направления в России и первым директором Института биологической и медицинской химии АМН СССР.

По обзору литературы и списку ссылок есть несколько небольших замечаний. Можно было бы, хотя бы кратко, описать основные свойства глицераальдегид-3-фосфатдегидрогеназы, поскольку этому ферменту посвящен довольно большой раздел экспериментальной работы. Возможно, это позволило бы в обсуждении дать более точную интерпретацию результатов. Из мелких замечаний: встречаются слишком общие рассуждения, например, не стоит описывать, что такое белки (стр. 28), первую фразу на стр. 21 легко интерпретировать в духе Т.Д. Лысенко, при описании старых работ следует указывать «цитировано по...», так как иначе создается впечатление, что наблюдение было сделано недавно (стр. 13), да и кто-нибудь может решить, что Чарльз Дарвин опубликовал свою книгу в 1999 году.

Раздел «Материалы и методы» написан очень хорошо и подробно. Знакомство с этим разделом позволяет сделать вывод о достоверности полученных результатов, а также о широком спектре использованных методов. Единственное замечание - отсутствует полное описание метода определения активности глицераальдегид-3-фосфатдегидрогеназы.

Описание результатов подробное, четкое и хорошо иллюстрированное. Автору удалось связать процессы ферментативного ацетилирования и деацетилирования с изменением продуктивности штамма-продуцента треонина *E. coli*. Интересно, что в начальной фазе ферментации повышение продуктивности штамма-продуцента происходит при ацетилировании, а на поздней - продуктивность увеличивается при

деацетилировании. Безусловно эти результаты важны для достижения максимальной продуктивности штамма-продуцентов аминокислот *E. coli*, поскольку достигаемые эффекты составляют около 30%. Интересен и необычен результат, касающийся влияния ацетилирования на каталитическую активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. Учитывая важную роль, которую играет 184 остаток лизина в катализе, можно было бы ожидать инактивации фермента при ацетилировании. Действительно, инактивация происходит, но только при неферментативном ацетилировании. Ферментативное ацетилирование, напротив, увеличивает активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, причем в 2 раза, что весьма неожиданно. Сделанные наблюдения весьма интересны не только с практической точки зрения, поскольку дают возможность регулировать эффективность гликолиза, но и с точки зрения фундаментальной энзимологии. Надеюсь, что будут получены кристаллографические данные об изменении пространственной структуры белка после его ферментативного ацетилирования и можно будет глубже понять причины столь кардинального изменения активности. Отличия в изменении активности при ферментативном и неферментативном ацетилировании подтверждают также представления об участии 184 остатка лизина в формировании активного центра глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, а также его экспонирование при превращении белка из NAD-дегидрогеназы в NADP-дегидрогеназу.

По экспериментальной части и по диссертационной работе в целом есть несколько вопросов и небольшие замечания. Целью работы, к сожалению, не может быть «изучение». Это следует учитывать при составлении заявок на гранты. Вторая статья в списке работ автора опубликована в хорошем российском журнале и следует давать ссылку на русском языке. На мой взгляд, введения в каждом разделе слишком обширные и часто повторяют обзор литературы. Иногда несколько страниц идет введение со ссылками, а затем одна фраза про результаты. В таблицах следовало бы указать изменения в процентном выражении (таблицы 4 и 5), чтобы легче было их анализировать. Взаимосвязь инактивации фермента и модификации остатка лизина 184 следовало бы изложить более подробно. Формулировка последнего вывода (номер 6) не очень четкая.

Высказанные в отзыве замечания носят рекомендательный характер и не умаляют ценности интересного и важного исследования, проведенного Н.С. Плехановой.

Достоверность и значимость полученных результатов обусловлена грамотным использованием современных микробиологических и биохимических методов исследования, а также разумным планированием экспериментов и адекватной оценкой полученных результатов.

Выводы диссертационной работы научно обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам. Полученные результаты не вызывают сомнений в объективности и достоверности. Статистическая обработка данных проведена корректно с использованием современных методов.

В целом, результаты диссертационной работы характеризуются высокой степенью новизны и имеют существенную теоретическую и научно-практическую значимость.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, хорошо обоснованы и полностью подтверждены приведенными экспериментальными результатами.

Основные результаты диссертации опубликованы в научной печати. Так, по теме диссертации опубликовано 5 журнальных статей в изданиях перечня ВАК РФ и международных цитатно-аналитических баз. Кроме того, результаты работы были представлены на различных научных конференциях, тезисы докладов которых также были опубликованы.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Заключение. Диссертационное исследование «ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ НЕ-АЦЕТИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ НА РЕГУЛЯЦИЮ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПОТОКОВ В *ESCHERICHIA COLI* ШТАММАХ-ПРОДУЦЕНТАХ АМИНОКИСЛОТ», является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение научной задачи, важной для развития биотехнологии. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.6. «Биотехнология».

По актуальности, использованию широкого набора методов, новизне, объему экспериментальных данных, научной и практической значимости диссертационная работа полностью соответствует критериям, предъявляемым к диссертациям, установленным Разделом 2 (п.9-14) «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации, от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции от 25.01.2024 г.), а её автор Наталья Сергеевна Плеханова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – «Биотехнология».

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 официальным оппонентом была защищена диссертация:

03.01.04 (1.5.4) – «биохимия»

Владимир Израилевич Муронец

9 декабря 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. Сергеев

