

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.038.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА
БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 06.10.2021 г., № 7

О присуждении Сутормину Олегу Сергеевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Би- и триферментные системы, сопряженные с бактериальной люциферазой, в вязком микроокружении: биофизические характеристики и применение» по специальности 03.01.02 – биофизика (1.5.2. Биофизика) принята к защите 19 мая 2021 года, протокол №6, диссертационным советом 24.1.038.01 (Д 002.039.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, по адресу 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки РФ 105/нк от 11 апреля 2012 года.

Соискатель – Сутормин Олег Сергеевич, «01» октября 1988 года рождения. В 2011 году окончил федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет» по специальности «биохимическая физика». С 01 октября 2011 года по 30 сентября 2015 года обучался в очной аспирантуре федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Сибирский федеральный университет» по специальности 03.01.02 – биофизика.

С 2012 года по настоящее время работает в лаборатории биолюминесцентных биотехнологий кафедры биофизики федерального

государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет» в должности младшего научного сотрудника и по совместительству – с 2020 г. по настоящее время на кафедре биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет» в должности старшего преподавателя.

Диссертация выполнена на кафедре биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет».

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор **Кратасюк Валентина Александровна**, заведующий кафедрой биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет».

Официальные оппоненты:

Исмаилов Анвар Джураевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и биохимии кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

Камнев Александр Анатольевич, доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет» в своем **положительном заключении**, подписанном доктором

биологических наук, профессором Минкиной Татьяной Михайловной, заведующим кафедрой почвоведения и оценки земельных ресурсов и утвержденном проректором по научной и исследовательской деятельности Университета, доктором химических наук Метелицей Анатолием Викторовичем, указала, что проведенное исследование содержит научно-обоснованные решения проблемы разработки подходов исследования поведения полиферментных систем в условиях, приближенных к внутриклеточным, а также основы биофизического конструирования комплексного ферментативного биотеста, обладающего избирательной специфичностью к определенным классам токсикантов и разным типам почв, что обеспечивает всесторонний ответ при оценке загрязнения сред сложного состава. Впервые исследовано влияние эффектов вязкости реакционной среды на активность полиферментных систем: биферментной (НАДН:ФМН-оксидоредуктаза + люцифераза) и триферментной (лактатдегидрогеназа + НАДН:ФМН-оксидоредуктаза + люцифераза). Получены зависимости изменения характеристик сопряженных ферментативных комплексов в зависимости как от длины цепи сопряжения, так и от вязкости микроокружения. В работе предложен новый критерий оценки эффективности взаимодействия сопряженных ферментов по изменению термостабильности. Впервые предложены структурные элементы и критерии для построения экспериментальной модели эффективного взаимодействия ферментов в метаболических фрагментах в условиях вязкости реакционной среды, приближенных к внутриклеточным. В заключении отмечено, что диссертационная работа Сутормина О.С. представляет собой завершённую научно-квалификационную работу и удовлетворяет требованиям, установленным пунктами 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. № 335, в редакции Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168), а ее автор, Сутормин Олег Сергеевич, заслуживает присуждения ученой

степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Соискатель имеет 25 опубликованных работ, все по теме диссертации, из них – 8 статей, опубликованных в рецензируемых российских и международных научных изданиях, включенных в базу цитирования Web of Science и Scopus, и 17 публикаций в российских и международных сборниках трудов и материалов научных конференций.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Sutormin, O. S. Effect of viscosity on efficiency of enzyme catalysis of bacterial luciferase coupled with lactate dehydrogenase and NAD(P)H:FMN-Oxidoreductase / O. S. Sutormin, I. E. Sukovataya, S. Pande, V. A. Kratasyuk // *Molecular Catalysis*. – 2018. – V. 458. – P. 60-66.
2. Сутормин, О. С. Ферментативное биотестирование почв: сравнение чувствительности к токсикантам моно-, би- и триферментной систем / О. С. Сутормин, Е. М. Колосова, Е. В. Немцева, О. В. Искорнева, А. Е. Лисица, В. С. Матвиенко, Е. Н. Есимбекова, В. А. Кратасюк // *Цитология*. – 2018. – № 10. – С. 826-829.
3. Esimbekova, E. N. Bioluminescent enzyme inhibition-based assay to predict the potential toxicity of carbon nanomaterials / E. N. Esimbekova, E. V. Nemtseva, A. E. Bezrukikh, G. V. Jukova, A. E. Lisitsa, V. I. Lonshakova-Mukina, N. V. Rimatskaya, O. S. Sutormin, V. A. Kratasyuk. // *Toxicology in Vitro*. – 2017. – V 45. – P. 128-133.

На автореферат поступило 3 положительных отзыва:

1) в отзыве д.х.н. **Монастырной Маргариты Михайловны**, ведущего научного сотрудника лаборатории химии пептидов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН), в качестве замечания отмечено, что в автореферате не указано, почему автор не использовал

стандартный и широко используемый подход для выявления механизмов внутриклеточного функционирования ферментативных систем с использованием краудинг-агентов; 2) в отзыве д.б.н., профессора **Стома Дэварда Иосифовича**, профессора кафедры зоологии позвоночных и экологии биолого-почвенного факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Иркутский государственный университет» содержится замечание о необходимости указать в тексте, чем руководствовался автор при выборе глицерина и сахарозы в качестве вязких агентов, и могут ли быть использованы другие химические соединения для реализации подхода дизайна вязкости реакционной среды; 3) в отзыве д.м.н., профессора **Дерябина Дмитрия Геннадьевича**, научного руководителя лаборатории селекционно генетических исследований в животноводстве Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» в качестве замечания отмечено, что при описании содержания главы 2 диссертации (стр. 7), следовало бы также указать методику, по которой проводилось биолюминесцентное тестирование наноматериалов и почвенных образцов, так как использование этой методики позволило получить один из основных результатов работы, которому посвящена отдельная глава диссертации.

В отзывах отмечено, что тема диссертации является актуальной, в работе определены наиболее информативные параметры, по которым можно судить о степени влияния вязкости реакционной среды на активность исследованных ферментативных систем, и введен интегральный критерий оценки эффективности кооперации ферментов в сопряженных системах, основанный на изменении величины термостабильности полиферментной системы. Полученные результаты имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации

обосновывается их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области биофизики, биотестирования и исследования внутриклеточного поведения ферментативных реакций, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования, что позволяет им оценить научную и практическую ценность диссертации. Оппонент д.б.н. Исмаилов А.Д. является одним из признанных специалистов в области бактериальной биолюминесценции, а также известным специалистом в разработке современных и инновационных биолюминесцентных тест-систем на основе клеточных и ферментативных препаратов. Оппонент д.х.н., профессор Камнев А.А. является ведущим специалистом в области молекулярной биофизики и изучения синтеза соединений, накапливаемых клетками бактерий при стрессах и повышающих их устойчивость. Ведущая организация – федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет» является одним из лидеров в области изучения процессов химического загрязнения почв и его экологических последствий для современной биосферы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана экспериментальная методика выявления механизма функционирования олигоферментных систем на примере би- и триферментативных цепей сопряжения с бактериальной люциферазой в условиях вязкого микроокружения, имитирующего внутриклеточную среду;

предложены научная гипотеза о роли глицерина и сахарозы в ограничении подвижности пространственных структур исследованных ферментов, а также новый критерий оценки эффективности взаимодействия сопряженных ферментов по изменению термостабильности;

доказана перспективность использования нового подхода к конструированию специализированных биолюминесцентных

ферментативных биотестов различной сложности для мониторинга экологической безопасности сред различного состава и степени загрязнения.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказаны положения, вносящие вклад в расширение представлений о функционировании ферментативных цепочек в условиях вязкого микроокружения, приближенного к внутриклеточным значениям;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов оценки активности ферментов в нетрадиционных средах, таких как измерение интенсивности свечения, константы спада, общего количества высвеченных квантов света, спектрофотометрические методы анализа, а также новые экспериментальные интегральные методики для определения термостабильности, изменения величины энергии активации и константы термоинактивации в полиферментных системах;

изложены экспериментальные данные, согласно которым традиционные буферные растворы не отражают адекватно физико-химические условия, в которых функционируют ферменты в реальной клетке;

изучены закономерности изменения активности би- и триферментных систем от вязкости реакционной среды и природы используемых агентов, моделирующих вязкое микроокружение.

Значения полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны новые методики оценки потенциальной токсичности наноматериалов и наночастиц;

определены пределы и перспективы практического использования комплексного ферментативного биотеста для оценки степени загрязнения почвенных образцов токсикантами;

создан программный алгоритм, позволяющий выявить влияние образцов почвы, не содержащих токсичных агентов, на ферментные биосенсоры.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных биофизических и биохимических методов исследования, стандартных методик обработки результатов; показана воспроизводимость полученных данных; проведены необходимые контрольные эксперименты;

теория влияния вязкого микроокружения на активность ферментативных цепочек, сопряженных с бактериальной люциферазой, согласуется с опубликованными ранее данными в смежных областях;

идея базируется на анализе и обобщении данных о влиянии вязких агентов на диффузионно-зависимые стадии реакций и процессы, обусловленные изменениями структурно-динамических характеристик белков в модельных средах;

установлено согласование авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по рассматриваемой тематике;

использованы современные методики сбора и обработки данных, построения графиков, такие как Origin Lab.

Научные положения, результаты и выводы, полученные в диссертации, достоверны и полностью подтверждаются экспериментальными данными, а также получили признание в виде научных публикаций.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, начиная с анализа литературных источников, планирования, подготовки и проведении научных экспериментов, в обработке и интерпретации экспериментальных данных, полученных лично автором или при его непосредственном участии, в написании статей и тезисов докладов на конференции.

Диссертация Сутормина Олега Сергеевича «Би- и триферментные системы, сопряженные с бактериальной люциферазой, в вязком микроокружении: биофизические характеристики и применение» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, удовлетворяющую требованиям, установленным пунктами 9–14 «Положения

о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 года, в редакции Постановления Правительства РФ № 748 от 02 августа 2016 года, в редакции с изменениями утвержденными Постановлением Правительства РФ № 1168 от 01 октября 2018 года, в которой содержится решение актуальных задач, посвященных изучению механизма функционирования ферментов и ферментативных цепочек в условиях, приближенных к внутриклеточным, а также разработка подхода к конструированию комплексного ферментативного биотеста, обладающего избирательной специфичностью к определенным классам токсикантов и разным типам почв и обеспечивающего всесторонний ответ при оценке загрязнения сред сложного состава.

На заседании 06.10.2021 диссертационный совет принял решение присудить Сутормину Олегу Сергеевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.01.02 – биофизика (1.5.2. Биофизика), участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель

диссертационного совета, д.т.н.



Трофимов А.В.

Учёный секретарь

диссертационного совета, к.х.н.

Мазалецкая Л.И.

06 октября 2021 г.