

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о соответствии диссертационной работы Сутормина Олега Сергеевича «Би- и триферментные системы, сопряженные с бактериальной люциферазой, в вязком микроокружении: биофизические характеристики и применение» профилю диссертационного совета Д 002.039.01 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Комиссия в составе д.б.н., проф. Пальминой Надежды Павловны, д.х.н., проф., Шишкиной Людмилы Николаевны, д.б.н., проф. Розенфельда Марка Александровича констатирует, что диссертационная работа «Би- и триферментные системы, сопряженные с бактериальной люциферазой, в вязком микроокружении: биофизические характеристики и применение» по теме, постановке задач, методам исследования и полученным результатам соответствует специальности 03.01.02 – биофизика, биологические науки.

Комиссия отмечает следующие научные результаты диссертационной работы и её новизну:

В диссертационной работе Сутормина О.С. впервые в результате изучения эффектов вязкости реакционной среды, имитируемой добавлением различных концентраций глицерина и сахарозы, на активность биферментной (НАДН:ФМН-оксидоредуктаза + люцифераза – Р + Л) и триферментной (лактатдегидрогеназа + НАДН:ФМН-оксидоредуктаза + люцифераза – ЛДГ + Р + Л) систем получены зависимости изменений кинетических (константа спада, общее количество высвеченных квантов света) и термодинамических (энергия активации, константа термоинактивации) характеристик метаболических ферментативных комплексов в зависимости как от длины цепи сопряженных ферментов, так и от вязкости микроокружения.

В данной работе показано, что увеличение вязкости реакционной среды влияет на подвижность пространственных структур ферментов, что объясняет уменьшение каталитической активности ЛДГ + Р + Л системы. Предложенный критерий оценки эффективности взаимодействия сопряженных ферментов по изменению термостабильности показал, что в триферментной системе ЛДГ + Р + Л теряется сопряжение по НАДН при увеличении вязкости микроокружения, в то время как эффективность сопряжения ферментов в биферментной системе Р + Л сохраняется в растворах повышенной вязкости даже при повышении температуры до +35С.

В работе Сутормина О.С. впервые предложены структурные элементы и критерии для построения экспериментальной модели эффективного взаимодействия ферментов в

метаболических фрагментах в условиях вязкости реакционной среды, приближенных к внутриклеточным.

Достоверность полученных результатов

Диссертационная работа Сутормина О.С. представляет собой цельное и хорошо структурированное научное исследование, выполненное на высоком экспериментальном уровне. Работа выполнена на надежном оборудовании с использованием как стандартных, ранее апробированных в работе других исследователей, так и уникальных методик. Для проверки достоверности и обоснованности результатов экспериментов, различия между показателями независимых выборок оценивались по критерию Стьюдента. Полученные значения считались достоверными при уровне значимости не ниже 95% ($p < 0,05$).

Все полученные в работе результаты подробно обсуждены с привлечением современных научных работ отечественных и зарубежных авторов. Научные положения и выводы диссертации Сутормина О.С. обоснованы, достоверны и логически вытекают из полученных экспериментальных данных.

Практическая и научная значимость работы

Из результатов работы следует, что найдены условия микроокружения для увеличения чувствительности к токсикантам у ферментативных систем, сопряженных с люциферазой. На примере оценки степени загрязнения почвенных экосистем показано, что повышение сложности системы (от моно- до триферментной) увеличивает чувствительность анализа, что позволяет управлять чувствительностью ферментативных тестов за счет использования ферментативных комплексов разной сложности или подбора систем, подверженных наименьшему влиянию фоновых компонентов почвы.

Показано, что биферментная система Р + Л имеет более высокую чувствительность к действию углеродных нанотрубок (УНТ), чем тест *in vivo* на основе люминесцентных бактерий (EC_{50} для одностенных углеродных карбоксилированных нанотрубок (ОСУНТ) и многостенных углеродных нанотрубок (МСУНТ) на 2–3 порядка ниже).

Предложены современные подходы для конструирования специализированных ферментативных биотестов различной сложности для целей мониторинга экологической безопасности сред различного компонентного состава и степени загрязнения.

Основные результаты диссертационной работы изложены в статьях автора, опубликованных в рецензируемых научных журналах:

1. Kratasyuk, V. A. Software for matching standard activity enzyme biosensors for soil pollution analysis / V. A. Kratasyuk, E. M. Kolosova, O. S. Sutormin, V. I. Lonshakova-Mukina, M. M. Baygin, N. V. Rimatskaya, I. E. Sukovataya, A. A. Shpedt // *Sensors*. — 2021. — V. 21. — P. 1017.
2. Колосова, Е. М. Комплексный ферментативный биотест для оценки загрязнения почвы / Е. М. Колосова, О. С. Сутормин, Е. Н. Есимбекова, В. И. Лоншакова-Мукина, В. А. Кратасюк // *Доклады академии наук*. — 2019. — № 1. — С. 103-107.
3. 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.
4. 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;
5. 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.
6. Сутормин, О. С. Спектры флуоресценции ферментов биоломинесцентной реакции бактерий в вязких средах / О. С. Сутормин, И. Е. Суковатая, В. А. Кратасюк // *Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология*. — 2014. — № 7. — С. 20–26.
7. Сутормин, О. С. Влияние вязкости реакционной среды на кинетику биферментной биоломинесцентной системы НАД(Ф)Н:ФМН-оксидоредуктаза-люцифераза / О. С. Сутормин, И. Е. Суковатая, В. А. Кратасюк // *Известия Алтайского государственного университета*. — 2013. — № 3. — С. 47-51.
8. Сутормин, О. С. Стабилизирующий эффект глицерина и сахарозы на биферментную систему светящихся бактерий НАД(Ф)Н:ФМН-оксидоредуктаза-люцифераза / О. С. Сутормин, И. Е. Суковатая, В. А. Кратасюк // *Вестник Оренбургского государственного университета*. — 2013. — № 10. — С. 148-151.

Помимо вышеуказанного, автором опубликованы тезисы 17 докладов на российских и международных конференциях:

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 г. № 1168).

Диссертация Сутормина О.С. удовлетворяет требованиям п. 9, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, в ред. Постановления Правительства РФ от 01.10.2018 г. № 1168).

На основании вышеизложенного комиссия рекомендует диссертационному совету Д 002.039.01 принять к защите диссертационную работу Сутормина Олега Сергеевича «Би- и триферментные системы, сопряженные с бактериальной люциферазой, в вязком микроокружении: биофизические характеристики и применение» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве официальных оппонентов:

- доктора биологических наук **Исмаилова Анвара Джураевича**, ведущего научного сотрудника лаборатории физиологии и биохимии кафедры микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

- доктора химических наук, профессора **Камнева Александра Анатольевича**, ведущего научного сотрудника лаборатории биохимии ФГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов» Российской академии наук;

В качестве ведущей организации предлагается федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет»

Председатель комиссии:



Члены комиссии:

