

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ

Сутормина Олега Сергеевича

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему:
«Би- и триферментные системы, сопряженные с бактериальной люциферазой, в вязком микроокружении: биофизические характеристики и применение», по специальности 1.5.2 – биофизика

Известно, что во внутриклеточной среде (*in vivo*) ферментативные реакции протекают под влиянием множества факторов, которые обычно не учитываются при стандартных биохимических исследованиях ферментов (*in vitro*). В частности, вязкость цитоплазмы может достигать значений от 2 до 15 сП в зависимости от типа клеток и их физиологического состояния, т.е. значительно превышает вязкость буферных растворов. С точки зрения влияния вязкости на метаболические процессы, помимо ограничения диффузии субстратов и ферментов, это вызывает изменение структурных и динамических характеристик белков и, следовательно, снижает эффективность ферментативных реакций (в частности, за счет стабилизации / дестабилизации их промежуточных звеньев). Поэтому для понимания принципов функционирования метаболических цепей *in vivo* актуальным является изучение механизмов воздействия вязких неоднородных сред в том числе на интермедиаты ферментативных систем. Работа О.С. Сутормина, посвящённая изучению механизмов функционирования ферментов в биферментных и триферментных цепях сопряжения с бактериальной люциферазой в условиях вязкого микроокружения, имитирующего внутриклеточную среду клетки, может пролить свет на процессы, происходящие внутри полиферментных систем, функционирующих в *in vivo*-среде.

В работе исследовано изменение основных кинетических характеристик двух ферментативных биолюминесцентных систем, представленных НАДН:ФМН-оксидоредуктаза + люцифераза (Р + Л) и лактатдегидрогеназа + НАДН:ФМН-оксидоредуктаза + люцифераза (ЛДГ + Р + Л). Показано, что ферментативным системам, в исследованном диапазоне значений вязкости реакционной среды от 1,0 до 6,2 сП, свойственно различная каталитическая активность. Так, ЛДГ + Р + Л система является более чувствительной системой, даже к минимальному изменению значений вязкости реакционной среды, по сравнению с Р + Л системой. Выявлено, что наиболее информативными параметрами, по которым можно судить о степени влияния вязкости реакционной среды на активность исследованных ферментативных систем, являются - величины I_m и k_{dec} . Для объяснения различного степени воздействия вязкого микроокружения на активность ЛДГ + Р + Л и Р + Л систем был введен интегральный критерий оценки эффективности кооперации ферментов, в сопряженных системах, основанный на изменении величины термостабильности полиферментной системы. Получено, что термостабильность Р + Л системы в присутствии глицерина и сахарозы увеличивается при варьировании температурных условий, а термостабильность ЛДГ + Р + Л системы не подвержена каким-либо изменениям, что говорит об отсутствии кооперативных эффектов между ферментами в данной триферментной системе.

Результаты, посвященные перспективам применения полиферментных систем с люциферазой в качестве биолюминесцентных ферментативных биотестов для оценки токсичности наноматериалов и почвенных образцов, загрязненных пестицидами и солями тяжелых металлов, показали, что Р + Л система подходит для оценки токсичности

наноматериалов и наночастиц. В дополнение, чувствительность Р + Л системы к многостенным углеродным нанотрубкам превосходит чувствительность существующих биологических методов определения потенциальной токсичности наноматериалов. В тоже время, ЛДГ + Р + Л система имеет наибольшую чувствительность к растворам хлорида меди (II), веществу, являющемуся наиболее частым антропогенным загрязнителем почвенных образцов.

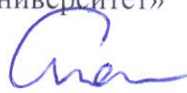
В качестве замечания к автореферату хочу отметить, что в тексте не указано, чем руководствовался автор при выборе глицерина и сахарозы в качестве вязких агентов, и могут ли быть использованы другие химические соединения для реализации подхода дизайна вязкости реакционной среды.

Тем не менее, приведённое выше замечание не снижает общего положительного впечатления от автореферата. Научная и практическая значимость работы не вызывает сомнений. Автореферат отражает содержание проведенных исследований в представленной диссертационной работе. Положения, выносимые на защиту, являются обоснованными, выводы являются логичным результатом работы и не противоречат её логике. Судя по автореферату, работа была выполнена на высоком и современном научном уровне.

Можно заключить, что диссертация Сутормина Олега Сергеевича «Би- и триферментные системы, сопряженные с бактериальной люциферазой, в вязком микроокружении: биофизические характеристики и применение» является законченным научно-квалификационным трудом и соответствует паспорту специальности 1.5.2 – биофизика. Она полностью отвечает требованиям ВАК и пунктам 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 ред. Постановления Правительства РФ от 01 октября 2018 г. № 1168). Сам диссертант заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Профессор кафедры зоологии позвоночных и экологии биолого-почвенного факультета
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Иркутский государственный университет»

Доктор биологических наук, профессор



/ Стом Дэвард Иосифович

«23» августа 2021 г.

Адрес: 664011, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, д. 5

Тел.: +7 (3952) 24-18-70

E-mail: stomd@mail.ru

Подпись Стома Дэварда Иосифовича заверяю
Ученый секретарь ФГБОУ ВО «ИГУ»



/ Кузьмина Нэлли Гавриловна