

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лисицы Альберта Евгеньевича
«Механизм влияния вязких сред на отдельные стадии реакции,
катализируемой бактериальной люциферазой»,
представленной на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. Биофизика

Диссертационная работа Лисицы А.Е. посвящена актуальной проблеме изучения влияния факторов окружающей среды на активность бактериальных ферментов, люцифераз. Люциферазы используются в биосенсорных тест-системах, чувствительных к присутствию токсичных или биологически активных веществ в образцах почвы, воды и пищевых продуктов для выявления токсичных примесей. Если свечение люциферазной реакции ослабевает, это означает наличие в пробах загрязняющих примесей. Люциферазы бывают «быстрые» и «медленные», в зависимости от скорости реакции светоизлучения. Быстрые люциферазы обеспечивают более яркую биолюминесценцию, поэтому они используются в биотестах для определения качества воды, почвы и пищевых продуктов. Известно, что они хорошо работают в биосенсорах при 25 градусах С. Одной из фундаментальных проблем клеточной биологии является визуализация прижизненных процессов, происходящих в клетках или целом организме. Медленные люциферазы изучают с целью применения их для подсветки живых клеток человека и животных. Все биохимические реакции в клетках протекают в условиях молекулярного краудинга, создаваемого высокой концентрацией белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов, осмолитов и других молекул, занимающих до 40% объема клетки. Краудинг оказывает значительное влияние на конформацию макромолекул, кинетику и термодинамику биологических реакций и на белок-белковые взаимодействия. Внутриклеточная среда из-за общей высокой концентрации макромолекул вплоть до 400 мг/мл обладает повышенной микровязкостью. Для понимания механизмов действия краудинга на активность и взаимодействия ферментов необходимо отделить эффекты краудинга от эффектов повышенной микровязкости среды на диффузионные процессы. Поэтому очень актуально изучение механизмов влияния вязких сред на каталитическую активность бактериальной люциферазы.

Автором получен ряд интересных результатов, касающихся влияния вязких соразтворителей на многостадийную биолюминесцентную реакцию, катализируемую бактериальной люциферазой. Впервые показано, что каталитическая константа бактериальной люциферазы не зависит от вязкости среды. В присутствии вязких соразтворителей различного молекулярного размера установлено, что распад пероксифлавинового интермедиата реакции зависит от микровязкости вблизи активного центра фермента. Показано, что биолюминесцентная реакция бактерий не чувствительна к эффекту краудинга, создаваемого полиэтиленгликолем и декстраном. Вязкие среды не изменяют температурный оптимум реакции, но замедляют термоинактивацию фермента.

Результаты работы вносят вклад в понимание фундаментальных механизмов влияния краудинга на биологические процессы в клетках, а также имеют практическое значение для использования люцифераз в биосенсорах при вариации факторов, влияющих на скорость биохимических реакций (в первую очередь вязкости и температуры среды).



Считаю, что диссертация А.Е. Лисицы по актуальности темы, научной новизне, объему выполненных исследований, достоверности экспериментальных результатов, обоснованности выводов и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ. Ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Ведущий научный сотрудник
Лаборатории структурной биохимии белка
Института биохимии им. А.Н. Баха
Федерального исследовательского центра
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук,
д.б.н по специальности 03.01.04 – Биохимия



Н.А. Чеботарева



Адрес: ФИЦ "Фундаментальные основы биотехнологии" РАН,
119071, г. Москва, Ленинский пр. 33, стр. 2
Телефон +7  52-83
E-mail: @gmail.com

19.10.2023