

ОТЗЫВ

на автореферат Деевой Анны Андреевны

«Вариабельность структуры люцифераз и NAD(P)H-FMN-оксидоредуктаз светящихся бактерий: филогенетический анализ аминокислотных последовательностей и молекулярное моделирование», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 - биофизика

Актуальность темы диссертационной работы А.А.Деевой определяется важностью понимания эволюционной истории отдельных ферментов и целых ферментных систем. В частности, работа решает задачу филогенетического анализа ключевых ферментов бактериальной биолюминесценции - люцифераз и вовлеченных в их субстратное обеспечение NAD(P)H-FMN-оксидоредуктаз. В тесной связи с этим вопросом анализируется возможность образования стабильного комплекса между названными ферментами, потенциально обеспечивающего прямой перенос субстрата – восстановленного флавина.

Работа выполнена на стыке специальностей 03.01.02 «Биофизика» и 03.01.09 «Математическая биология, биоинформатика» с использованием представительного ряда современных методов компьютерного анализа, включающих множественное сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, моделирование пространственной структуры белков и белок-белковых взаимодействий.

При проведении работ в обозначенном направлении диссертантом выполнен филогенетический анализ 21 бактериальной люциферазы, на основании которого четко продемонстрирована принадлежность каждой из них к двум группам ферментов с «быстрой» или «медленной» кинетикой биолюминесценции. Важно, что такое распределение было получено не только в отношении хорошо изученных люцифераз *V.harveyi*, *A.fischeri*, но и для относительно недавно описанных и слабо изученных ферментов, что дало возможность четко прогнозировать особенности их функциональной активности. Кроме того, в первичной аминокислотной последовательности этих люцифераз были идентифицированы консервативные аминокислотные остатки (в том числе в позициях 74, 75 и 106), что при проведении дальнейшего моделирования активных центров позволило объяснить различия в кинетике биолюминесценции двумя вариантами взаимодействия с FMNH⁺.

Сходный, но еще более масштабный анализ выполнен в отношении NAD(P)H-FMN-оксидоредуктаз. При этом дополнительно показаны отличия сайтов связывания у двух групп подобных ферментов, возникших в результате дупликации исходного гена и в дальнейшем эволюционировавших по пути обеспечения базового энергетического метаболизма бактериальных клеток (Fre) или энергетического обеспечения бактериальной биолюминесценции (LuxG). В качестве же пожеланий диссертанту следует указать на необходимость более строгого доказательства параллельной эволюции белков LuxAB и LuxG, для чего

следовало сопоставить их кладограммы, не ограничиваясь представлением только коэффициентов корреляций между матрицами расстояний филогенетических деревьев.

Отдельный интерес представляют полученные диссертантом данные, вопреки ожиданиям свидетельствующие против образования стабильного комплекса люциферазы и NAD(P)H-FMN-оксидоредуктазы. При этом автор не оставляет без ответа вопрос о прямой передаче FMNH⁺ или его свободной диффузии к ферменту: предлагаемое решение заключается в возможности «слабого» белок-белкового взаимодействия с участием Arg291 альфа-субъединицы люциферазы и Gln197 NAD(P)H-FMN-оксидоредуктазы, что требует своей проверки, в том числе путем проведения сайт-направленного мутагенеза.


Сделанные диссертантом выводы вполне корректны и полностью соответствуют исходно поставленным задачам.

Автореферат хорошо написан и оформлен, пониманию работы способствует достаточный объем иллюстраций и схем. Диссертантом опубликованы 19 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах из списка ВАК РФ, из которых 2 имеют непосредственное отношение к теме проведенного исследования. Результаты работы представлены на многочисленных, в том числе международных научных конференциях.

Считаю, что по объему фактического материала, научной новизне и практической значимости диссертационная работа А.А.Деевой «Вариабельность структуры люцифераз и NAD(P)H-FMN-оксидоредуктаз светящихся бактерий: филогенетический анализ аминокислотных последовательностей и молекулярное моделирование» соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

Заведующий лабораторией микробиологии
Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»,
доктор медицинских наук, профессор


Дерябин Дмитрий Геннадьевич

460000, Оренбургская область, г. Оренбург, ул. 9 Января д. 29
Телефон: , Адрес электронной почты: dgderyabin@yandex.ru

Подпись Дерябина Дмитрия Геннадьевича заверяю,
Ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»,
кандидат сельскохозяйственных наук


М. П.

_____ 2018 года


Кизаев Михаил Анатольевич