

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. направлена на... выяснение механизмов, обеспечивающих устойчивость метаболических процессов в клетках в условиях многокомпонентного негомогенного окружения, изменяющегося под действием внешних факторов (температуры, давления, солености и др.). В качестве объекта исследования использована ферментативная система бактериальной люциферазы, катализирующей многостадийный процесс, включающий как ферментативные, так и неферментативные стадии соокисления восстановленного флавина и алифатического альдегида, который сопровождается эмиссией света. Целью данной работы являлось определение общих и специфических механизмов влияния вязких сред на эту реакцию.

Залогом успеха данного исследования явилось то, что в работе впервые предложена и использована математическая модель кинетики биолюминесцентной реакции, катализируемой «быстрой» люциферазой *P. leiognathi*. Она оказалась отлична от более ранних моделей, предложенных для реакции «медленной» люциферазы *V. harveyi*, что показывает различия в функционировании этих ферментов из разных структурных подсемейств. Разработанная модель позволила количественно охарактеризовать влияние различных соразтворителей на константы скорости отдельных стадий процесса и сделать выводы о механизме их действия.

В автореферате подробно описаны экспериментальные методы, использованные диссертантом, что показывает высокий уровень исследования, надежность и достоверность полученных результатов.

Наиболее важными результатами являются данные о том, что диффузионно-контролируемыми процессами являются неферментативное окисление восстановленного флавина, а также процесс связывания флавина с ферментом и темновой распад пероксифлавинового интермедиата. Тот факт, что низкомолекулярные соразтворители (глицерин и этиленгликоль) замедляют стадию связывания восстановленного флавиномононуклеотида с люциферазой в большей степени, чем это обеспечивается вязкостью среды, может указывать на то, что благодаря малым размерам их молекул эти соразтворители способны проникать глубоко в полость активного центра люциферазы и взаимодействовать с центром связывания субстрата. В то же время низкомолекулярные соразтворители (сорбитол, глюкоза и сахароза), не способные проникать в полость активного центра люциферазы, ускоряют стадию формирования электронно-возбужденного интермедиата реакции.

В целом, исследование подтверждает, что накопление в бактериальных клетках веществ, повышающих вязкость, может быть одним из механизмов сохранения нестабильных метаболитов, таких как восстановленный флавинмононуклеотид.

Автореферат хорошо написан и грамотно оформлен. Однако встречаются некоторые недочеты. Вряд ли можно говорить о «скорости элементарной биохимической стадии», рассматривая скорости индивидуальных стадий в люциферазной реакции (стр.9). В главе 5 говорится, что «кинетику биолюминесценции реакции, катализируемой люциферазой *P. leiognathi* и *V. harveyi*, изучали при температуре 5-45 °С в буфере и 30% сахарозе», но приведены результаты только для люциферазы *P. leiognathi*.

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.

Главный научный сотрудник кафедры химической энзимологии
химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова
д.х.н. по специальности 02.00.15. Химическая кинетика и катализ.
профессор



Н.Н.Угарова

Адрес: Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова, химический факультет,
119991, Москва, Ленинские Горы, дом.1, строение 3
Тел./факс: 8 [redacted] 2660
E-mail: n [redacted] @gmail.com

20.10.2023 г.

