

Отзыв

доцента кафедры химии природных соединений химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова к.х.н. Родиной Елены Валерьевны
на автореферат диссертации Глазуновой Ольги Александровны
“Структурно-функциональное исследование лакказ базидиомицетов”, представленной на
соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 03.01.04 Биохимия

Диссертационная работа Ольги Александровны посвящена сравнительной характеристике неохарактеризованных ранее лакказ - медь-содержащих оксидоредуктаз, широко используемых в различных отраслях промышленности. Фундаментальная ценность работы заключается в расширении нашего представления о механизме каталитического действия лакказ. Хотя на сегодняшний день известно множество лакказ из эволюционно различных организмов, многие вопросы, связанные с их работой, остаются невыясненными. Каждый новый охарактеризованный фермент, каждая новая структура лакказ поставляет материал для сравнительного анализа и позволяет нам глубже и детальнее понять взаимосвязь между строением и функциональными особенностями этих ферментов. Несомненная и практическая значимость работы: организмы, из которых выделены исследуемые объекты, способны к деградации лигнина, а секреции ими ферменты могут быть, в частности, использованы для повышения эффективности переработки древесины при производстве бумаги, биоэтанола, синтезе вторичных метаболитов и в других важнейших процессах. Поиск лакказ с заданными свойствами – термостабильностью, заданной субстратной специфичностью, значениями окислительно-восстановительного потенциала – и выяснение структурных основ этих особенностей является важной и актуальной задачей.

Диссертационная работа Ольги Александровны включает огромный объем лабораторного и вычислительного эксперимента. Автор демонстрирует уверенное владение современными методами выделения и очистки белков, их физико-химического и структурного анализа. В работе получены и охарактеризованы два новых белка, проведен сравнительный анализ каталитических свойств четырех лакказ с использованием ряда модельных ароматических субстратов. Получены 20 кристаллических структур высокого разрешения для трех различных белков и их комплексов. Грамотно спланированная экспериментальная работа не позволяет сомневаться в качестве полученных результатов.

Отдельного внимания заслуживает представленный в работе анализ полученных структур лакказ с целью выяснения факторов, определяющих значение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) иона меди в центре Т1. Автору удалось обнаружить корреляцию значения ОВП с доступностью растворителю вариабельных петель, окружающих металл-связывающий центр. Этот уникальный результат отражает аналитические способности автора. Полученная закономерность может быть использована в дальнейшем для предсказания свойств новых лакказ, а также для инженерии лакказ с заданными значениями ОВП иона меди в центре Т1.

Еще одна интересная особенность работы – группа экспериментов по решению ряда структур лакказы SmL с одного кристалла с последовательным изменением состояния ионов меди в центре Т2/Т3. Обращает на себя внимание, что автору удалось решить эти структуры, несмотря на сложный состав каждого комплекса и наложение альтернативных конформаций ионов меди и их лигандов. Хочется также отметить, что автор, не ограничиваясь описанием результатов эксперимента, проводит их тщательный анализ и предлагает модель постадийного восстановления молекулярного кислорода до воды в центре Т2/Т3. Эта модель представляет важный вклад в наше понимание каталитического механизма лакказ.

Единственное замечание, которое хотелось бы высказать, касается части,

посвященной получению и характеристике исходных белковых препаратов. На мой взгляд, она написана слишком сжато, а те результаты, которые все-таки приведены, недостаточно проанализированы. В частности, из текста неясно, для чего определяли массовое содержание сахаров в препаратах и согласуется ли эта информация с содержанием и природой сахаров, видимых в структурах. Нигде не указана катализируемая реакция и не обсуждается судьба органического субстрата, что может быть весьма важно как для интерпретации каталитических параметров, так и в свете предполагаемого практического использования новых лакказ. Высказанное замечание касается стиля оформления автореферата и не умаляет достоинств работы в целом.

Работа прошла значительную апробацию в виде устных и стеновых докладов, опубликовано большое количество статей. Нет никаких сомнений в том, что проделана большая работа и получены качественные результаты самого высокого уровня. Ольга Александровна овладела широким спектром экспериментальных методов и выстроила на их основе серьезное междисциплинарное исследование. Новизна полученных результатов и их практическая значимость не вызывают сомнений.

Диссертация О.А. Глазуновой несомненно отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук.

К.х.н., доцент
Химического ф-та МГУ

Е.В. Родина

Подпись Е.В. Родиной удостоверяю

