

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Е.Ю. Безсудновой** «Взаимосвязь структуры и функции ферментов из термофильных организмов на примере дегидрогеназ и трансаминаз», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия

Одним из направлений современной биоинженерии является направленное создание биокатализаторов, в том числе и модифицированных ферментов, которые позволяют повысить эффективность протекания соответствующих реакций и даже осуществлять превращения, не происходящие в живых системах. Соответственно, появляется возможность существенно упростить получение сложных, в основном хиральных, соединений, которые могут использоваться как таковые, или служить исходными для последующих синтезов. Подобные исследования *a priori* предусматривают глубокое понимание механизмов соответствующих ферментативных реакций, адекватное представление о структуре и динамике активного центра фермента и путях его реорганизации, что и позволяет осуществить заданное превращение, зачастую отличное от реакции, которую в природе катализирует данный фермент.

Диссертационная работа Е.Ю. Безсудновой принадлежит к подобному типу комплексных исследований, выполняемых на пересечении биоорганической химии и энзимологии с широким использованием данных рентгеноструктурных исследований ферментов и фермент-ингибиторных комплексов. Этот подход был успешно применен Е.Ю. Безсудновой для изучения взаимосвязи структуры и функции в дегидрогеназах и трансаминазах из архей и термофильных бактерий. В качестве объектов исследований были выбраны термофильные NADP-зависимые алкогольдегидрогеназа и альдегиддегидрогеназа, а также относительно малоизученные пиридоксаль-5'-фосфат (PLP) зависимые трансаминазы из архей и бактерий с IV типом укладки PLP-связывающего домена.

В первых двух разделах автореферата Е.Ю. Безсуднова провела структурно-функциональный анализ двух дегидрогеназ из архей, что позволило определить факторы, обеспечивающие термостабильность этих ферментов. Оказалось, что термостабильность связана с повышенным содержанием доли заряженных остатков аминокислот и повышением плотности водородных связей в белковой глобуле. Кроме того, оказалось, что поверхность алкогольдегидрогеназы из архей *Thermococcus sibiricus* покрыта сетью солевых мостиков, которые и обеспечивают термостабильность фермента, галотолерантность и устойчивость к денатурирующим реагентам.

Третий, больший раздел автореферата, посвящен изучению PLP-зависимых трансаминаз разветвленных L-аминокислот с IV типом укладки полипептидной цепи. В результате анализа пространственной структуры этих трансаминаз и особенностей организации их активных центров показано, что строение функционального димера, включая и соответствующие характеристические мотивы последовательностей, универсально для трансаминаз из архей, бактерий и эукариот. Установлено, что изменения в характеристических мотивах последовательностей, формирующих активный центр трансаминаз, приводят к расширению субстратной специфичности у ферментов из архей *Thermoproteus uzoniensis* и *Vulcanisaeta moutnovskia* и к появлению субстратных свойств у трансаминаз из бактерий *Thermobaculum terrenum* и *Haliangium ochraceum* в отношении низших (R)-1-фенил-2-аминоалканов – «первичные (R)-амины». При этом

появление субстратных свойств фермента в отношении первичных (R)-аминов не приводит к снижению активности фермента в реакциях с природными субстратами – L-аминокислотами и соответствующими α -кетокислотами. Таким образом, Е.Ю. Безсудновой удалось предложить и реализовать оригинальный алгоритм дизайна новых трансаминаз, заключающийся в направленном изменении характеристических мотивов последовательностей, формирующих активный центр фермента. Это позволило существенно расширить традиционные представления о взаимосвязи *последовательность-структура-функция* и получить фермент с новыми активностями, проводя точечные замены в активном центре фермента, сохраняя его организацию и руководствуясь сформулированными диссертантом критериями.

В целом, диссертационная работа Е.Ю. Безсудновой представляет собой масштабное исследование, в рамках которого на примере дегидрогеназ и трансаминаз из архей и термофильных бактерий было проведено комплексное исследование взаимосвязи структуры и функции этих ферментов. Результаты диссертационной работы представлены в 22 статьях, опубликованных в ведущих зарубежных и отечественных научных журналах, входящих в международные базы данных, одном патенте Российской Федерации, и апробированы на многочисленных международных и всероссийских конференциях. Полученные результаты и разработанные алгоритмы в совокупности можно квалифицировать как новое крупное научное достижение в области энзимологии.

В автореферате Е.Ю. Безсудновой четко выдержан вектор сложного и многопланового исследования, что позволило автору хорошо связать, все части работы, содержащей оригинальные и значимые данные и результаты. Автореферат хорошо иллюстрирован, что позволяет легко ориентироваться в большом массиве экспериментальных данных. Принципиальных замечаний по работе нет.

Диссертационная работа Е.Ю. Безсудновой «Взаимосвязь структуры и функции ферментов из термофильных организмов на примере дегидрогеназ и трансаминаз», по своей актуальности, уровню проведенных исследований и практической значимости полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 г., ред. от 01 октября 2018 г. № 1168, ред. от 24 февраля 2021 г. № 118, ред. от 20 марта 2021 г. № 426), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора химических наук, а ее автор – Безсуднова Екатерина Юрьевна безусловно заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

06 мая 2022 г.

Хомутов Алексей Радиевич

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории молекулярных основ действия физиологически активных соединений
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
молекулярной биологии им В.А. Энгельгардта, Российской академии наук (ИМБ
РАН)

Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, д.32

E-mail: alexkhom@list.ru Тел.: +7-499-1356065

Подпись А.П. Хомутова одобряю
Ученый секретарь ИМБ РАН
Бочаров А.И.

