

ОТЗЫВ

научного руководителя на диссертационную работу Варфоломеевой Ларисы Александровны «Структурное исследование трехъядерного медного центра тиоцианатдегидрогеназы», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

В 2020 году Варфоломеева Л.А. окончила кафедру биохимии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» с присуждением степени магистра по направлению 06.04.01. «Биология» по программе Общая биохимия. С 2020 по 2024 гг. обучалась в очной аспирантуре на ФИЦ Биотехнологии РАН. В 2024 году Варфоломеевой Л.А. была присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель-исследователь» (диплом об окончании аспирантуры 107705 0002689).

Лариса Александровна присоединилась к коллективу лаборатории Инженерной энзимологии в 2018 г. и защитила магистерскую дипломную работу в 2020 г. Во время выполнения дипломной работы и далее в аспирантуре Варфоломеева Л.А. была вовлечена в ряд различных научных проектов в рамках направления, связанного со структурными исследованиями макромолекул (полученные результаты опубликованы в 20 статьях). С 2020 по 2024 гг. Лариса Александровна выполняла научно-квалификационную работу в рамках аспирантуры ФИЦ Биотехнологии РАН по направлению 06.06.01 Биологические науки. Обучение в аспирантуре совмещала с работой в лаборатории инженерной энзимологии (зав. лабораторией Академик В.О. Попов), где и продолжает работу по настоящее время.

Варфоломеева Л.А. подготовила диссертацию на тему «Структурное исследование трехъядерного медного центра тиоцианатдегидрогеназы», которая была рассмотрена на заседании совместного семинара лабораторий инженерной энзимологии, биотехнологии ферментов, структурной биохимии белка и белок-белковых взаимодействий Института биохимии им. А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук и лаборатории химии координационных полиядерных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук от «10» апреля 2025 года. Диссертация была рекомендована к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Работа Варфоломеевой Л.А. посвящена исследованию медного фермента – тиоцианатдегидрогеназы (TcDH). Данный фермент катализирует реакцию окисления тиоцианата до цианата и элементной серы и участвует в энергетическом и азотном метаболизме у сероокисляющих бактерий. TcDH является димерным белком, в активном центре которого содержится

уникальный трехъядерный медный центр. На основании рентгеноструктурных данных и квантовомеханических расчетов был сформулирован механизм каталитической реакции TcDH. Однако некоторые вопросы интерпретации структурных данных и отсутствие структур комплексов фермента с ингибиторами не позволяли однозначно подтвердить предложенный механизм. В рамках диссертационной работы для Варфоломеевой Л.А. были поставлены задачи получить структурные данные высокого качества для характеристики деталей строения трехъядерного медного центра TcDH, исследовать закономерности функционирования фермента, а также уточнить и дополнить ранее предложенный механизм каталитической реакции.

В результате проведенного Варфоломеевой Л.А. исследования устройство трехъядерного медного центра TcDH было охарактеризовано в деталях для двух конформаций фермента, благодаря полученным структурным данным атомного разрешения. Модель ориентации субстрата в активном центре TcDH была подтверждена на основании структур комплекса фермента с ингибиторами. Окислительно-восстановительное состояние трехъядерного медного центра в свободной форме фермента и со связанным ингибитором было изучено методом спектроскопии ЭПР. Установлена роль консервативного остатка фенилаланина в конформационных переходах методами рентгеноструктурного анализа и сайт-направленного мутагенеза. Результаты, полученные Варфоломеевой Л.А. в рамках диссертационной работы, позволили выявить важные структурные перестройки активного центра TcDH, предположить роль консервативных остатков и каждого из ионов меди, подтвердить и детализировать этапы связывания субстрата, активации нуклеофила и нуклеофильной атаки предложенного механизма каталитической реакции. Диссертационная работа Варфоломеевой Л.А. внесла существенный вклад в понимание закономерностей функционирования TcDH и медных центров белков в целом.

В ходе выполнения диссертационной работы Лариса Александровна проявила себя вполне сформировавшимся исследователем, способным к планированию исследования, освоению новых методов, формулировке научных гипотез и критическому анализу результатов проведенных экспериментов. Варфоломеева Л.А. успешно справилась со всеми задачами, поставленными в рамках ее работы. По теме диссертации было опубликовано 4 статьи в международных рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК, результаты доложены на 13 международных и всероссийских конференциях. Лариса Александровна является исполнителем грантов, поддержанных фондами РНФ и Минобрнауки, а также активно участвует в проведении практикумов и чтении лекций для студентов Биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова (магистерская программа "Структурная биология и биотехнология").

Варфоломеева Л.А. в полной мере соответствует требованиям для присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв дан для предоставления в Диссертационный совет 24.1.233.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Старший научный сотрудник

лаборатории инженерной энзимологии

Федерального государственного бюджетного учреждения «Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»,

кандидат биологических наук (специальность 03.01.04 - Биохимия)



(Бойко К. М.)

«30» апреля 2025 г.

тел. 8(495) 952-3681

e-mail: kmb@inbi.ras.ru

