

Отзыв на автореферат кандидатской диссертации Соловьевой Анастасии Юрьевны на тему "Механизм сборки трехъядерного медного центра и детали функционирования тиоцианатдегидрогеназы"

Диссертационная работа Соловьевой А.Ю. посвящена изучению механизмов транспорта и встраивания ионов меди в белки, что является важнейшей задачей для понимания клеточного гомеостаза. Медь выступает в роли кофактора множества ферментов, критически важных для дыхания, метаболизма и защиты от окислительного стресса, однако ее свободные ионы токсичны, что требует наличия сложных систем металлошаперонов. Особый интерес представляют ферменты с высоким биотехнологическим потенциалом, такие как бактериальная тиоцианатдегидрогеназа (ТсДН). До начала данного исследования молекулярные механизмы активации ТсДН и белки-партнеры, участвующие в этом процессе, оставались неизученными. Комплексный подход автора к восполнению этого пробела делает тему диссертации высокоактуальной как для фундаментальной биохимии, так и для прикладной биотехнологии.

Научная новизна работы не вызывает сомнений и подтверждается рядом впервые полученных результатов. В частности, автором были выделены и структурно-биохимически охарактеризованы два одногемовых цитохрома (с552 и с546/556) из бактерии *Thioalkalivibrio paradoxus*, способных выступать физиологическими акцепторами электронов для ТсДН. Кроме того, в работе детально исследованы кинетика и термодинамика процессов встраивания ионов меди в активный центр фермента, установлена стехиометрия и определена аффинность их связывания для трех различных сайтов (Cu1, Cu2, Cu3), а также с помощью ЭПР-спектроскопии доказана строгая последовательность их заполнения *in vitro*. Важным достижением стало и экспериментальное подтверждение функции медь-связывающего белка trCopC как специфического металлошаперона, обеспечивающего доставку ионов меди к активному центру апо-ТсДН.

Достоверность полученных в диссертации результатов обеспечена использованием широкого спектра современных и взаимодополняющих физико-химических и биохимических методов. Автор применял методы генетической инженерии, спектрофотометрии, флуоресценции, изотермической титрационной калориметрии, молекулярного моделирования, а также передовые структурные методы: ЭПР, ЯМР-спектроскопию и рентгеноструктурный анализ. Высокий уровень исследований подтверждается их поддержкой грантами РФ и публикацией 4 статей в высокорейтинговых международных рецензируемых журналах. Результаты прошли успешную апробацию на 7 всероссийских и международных научных конференциях.

Помимо фундаментального вклада в понимание механизмов биогенеза сложных медь-содержащих ферментов, работа имеет выраженную практическую значимость. Фермент ТсДН катализирует реакцию окисления тиоцианата - токсичного и стабильного соединения, которое массово образуется в промышленных процессах. Раскрытие механизмов формирования функционально активного фермента ТсДН является необходимым и важнейшим этапом для создания эффективных биотехнологических систем детоксикации промышленных тиоцианат-содержащих отходов.

Автореферат написан грамотным научным языком, материал изложен логично и последовательно. Представленная структура (введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы) полностью соответствует требованиям, предъявляемым к квалификационным работам. Графический материал (спектры, кинетические кривые, 3D-модели белковых структур) оформлен на высоком уровне, наглядно иллюстрирует текст и облегчает восприятие сложных структурных и термодинамических данных. Положения, выносимые на защиту, сформулированы четко и лаконично, полностью отражая суть проведенного исследования.

К работе есть следующее замечание: Автор использует нестандартную форму записи констант в виде отрицательных значений логарифма константы диссоциации. В биохимической литературе традиционно принято указывать либо саму размерную величину, либо отрицательный логарифм этой величины, который имеет положительное значение. В связи с этим хотелось бы уточнить у автора, чем обусловлен выбор такого способа записи.

Кроме того, в работе встречается небольшое число опечаток, орфографических и синтаксических ошибок. Например:

- Предложение на странице 3: «В связи с этим, понимание механизмов направленного транспорта и встраивания ионов меди в ферменты, что в клетке осуществляет специальный класс белков – металлошапероны, является актуальной задачей не только для фундаментальной науки, но и для медицины» требует переформулировки. Кроме того, слово «металлошапероны» употреблено в грамматически несогласованной форме.

- В предложении на странице 4: «ТсДН катализирует окисление тиоцианата – стабильного соединения, образующегося в различных промышленных процессах, как производство гербицидов и инсектицидов, газификация и коксование угля, добыча золота» пропущено слово «таких».

- Выражения на странице 20: «назван~~н~~ый мотивом “гистидиновая скрепка”» «в наиболее узко~~м~~» содержат ошибки в написании слов.

Заключение Судя по представленному автореферату, диссертационная работа Соловьевой Анастасии Юрьевны «Механизм сборки трехъядерного медного центра и детали функционирования тиоцианатдегидрогеназы» представляет собой завершенное, самостоятельное научно-исследовательское исследование, решающее важную задачу фундаментальной биохимии. Диссертационная работа Соловьевой А.Ю. полностью соответствует всем требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Я, Борщевский Валентин Иванович, даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН и в Федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело соискателя и дальнейшую обработку.

Д.ф.-м.н., руководитель Лаборатории структуры и динамики биомолекул

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (МФТИ)

Борщевский В. И.

21/04/2026

Почтовый адрес: 141701, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., д. 9

E-mail: borshchevskiy.vi@phystech.edu

Тел. +7 (964) 632 8650

Подпись и сведения Борщевского Валентина Ивановича удостоверяю:

Ученый секретарь МФТИ (Физтех)



Евсеев Е.Г.