

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы

Соловьевой Анастасии Юрьевны

«Механизм сборки трехъядерного медного центра и детали функционирования тиоцианатдегидрогеназы»,

представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Диссертационная работа Соловьевой А. Ю. посвящена фундаментальной проблеме современной биохимии — исследованию механизмов направленного транспорта и встраивания ионов меди в сложные металлоферменты. Объектом исследования выбрана тиоцианатдегидрогеназа (TcDH) — ключевой фермент в метаболизме некоторых тиоцианат-разлагающих галоалкалофильных сероокисляющих бактерий с уникальным трёхъядерным медным центром (Cu1, Cu2 и Cu3). Перед диссертантом была поставлена цель изучить детали функционирования и механизм сборки медного центра TcDH *in vitro* с использованием современных подходов молекулярной биологии, биохимии, ферментативной кинетики, ЭПР-спектроскопии, изотермической титрационной калориметрии и структурного анализа.

Новизна представленной работы явно прослеживается. Так, в ходе выполнения работы автором впервые были выделены и охарактеризованы два одноклеточных цитохрома c552 и c546/556 из *Thioalkalivibrio paradoxus*, которые могут выступать физиологическими акцепторами электронов в реакции окисления тиоцианата, катализируемой TcDH. Методом ферментативной кинетики диссертантом детально изучена активация TcDH при добавлении ионов Cu(II)/Cu(I), причём показано, что ионы Cu(I) встраиваются менее, чем за одну минуту, тогда как встраивание ионов Cu(II) происходит за 24 часа. С помощью методов спектрофотометрии и спектрофлуориметрии автором впервые определены стехиометрия и аффинность связывания трёх ионов меди с активным центром фермента. В работе был также использован метод ЭПР-спектроскопии, который позволил установить последовательность заполнения медных сайтов: на первом этапе одновременно заполняются сайты Cu2 и Cu1, на втором — сайт Cu3. Результатом проведённого исследования стало также биохимическое и структурное изучение медь-связывающего белка *tpCopC*, ген которого расположен в одном кластере с геном TcDH. Автором впервые подтверждена способность *tpCopC* выступать в роли специфического металлошаперона, образующего комплекс с TcDH и передающего ионы меди апо-ферменту через стадию восстановления до Cu(I), что вносит существенный вклад в понимание биогенеза сложных медь-содержащих ферментов.

Актуальность темы диссертационной работы совершенно не вызывает сомнений, поскольку представленные данные важны как с теоретической точки зрения для понимания механизмов гомеостаза меди и созревания металлоферментов, так и с практической — в биотехнологии для разработки

эффективных биологических методов детоксикации тиоцианат-содержащих отходов, образующихся при газификации угля, коксовании, добыче золота и производстве пестицидов. В работе использован значительный арсенал современных методов генетической инженерии, хроматографии, ферментативной кинетики, спектрофотометрии, флуоресценции, изотермической титрационной калориметрии, потенциометрии, ЭПР- и ЯМР-спектроскопии, молекулярного моделирования, кристаллизации и рентгеноструктурного анализа. Материалы диссертационной работы были опубликованы в рецензируемых научных журналах и представлены в виде докладов на научных конференциях, что подтверждает достоверность полученных результатов. Автореферат работы хорошо структурирован и проиллюстрирован, описание полученных результатов построено логично. Диссертационная работа Соловьевой А.Ю. является законченным научным исследованием, выполненным на высоком уровне, а диссертанта следует характеризовать как самостоятельного и квалифицированного исследователя.

Таким образом, данная работа полностью соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор, Соловьева Анастасия Юрьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Я, Клячко Наталья Львовна, 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.

Доктор химических наук по специальности 02.00.15 - Кинетика и катализ,
Профессор, Заведующий кафедрой химической энзимологии Химического факультета МГУ,
Клячко Наталья Львовна

Контактные данные:

Адрес: 119192, Москва, Ленинские горы 1, стр. 11Б

Телефон: +7 (495) 939-34-76

Электронная почта: klyachko@enzyme.chem.msu.ru

24 апреля 2026 года

Клячко Н.Л./ 

Подпись Клячко Н. Л. заверяю

24 апреля 2026 года

