

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Лю Вэньсюэ
на тему «Исследование молекулярных свойств D-аминокислотной оксидазы»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.2 – Биофизика (биологические науки)

Диссертация Лю Вэньсюэ посвящена исследованию генетических и молекулярных механизмов активности фермента D-аминокислотной оксидазы (DAAO), выполняющей важные функции в клетках. Актуальность темы не вызывает сомнений: DAAO широко применяется для биотехнологических и медицинских целей, в т.ч. в качестве основы биокатализаторов для конверсии модифицированных D-аминокислот при синтезе антибиотиков; для получения α -кетокислот, L-аминокислот, используемых при синтезе лекарств; в новых методах диагностики и контроля бактериального загрязнения продуктов питания. Лю В. получен набор мутантных штаммов дрожжей *H. polymorpha* DL-1 с нарушением генов, кодирующих DAAO, получены и исследованы генетические и физиологические характеристики нокаутных генов DAAO, подтверждена субстратная специфичность оксидазы *H. polymorpha* и изучена конформации белков и флавинов *in vitro*. С помощью спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) исследованы изменения конформации флавина DAAO. Показано, что при взаимодействии флавина DAAO с D-аланином изменения конформации флавина происходят в течение более короткого промежутка времени, чем при взаимодействии с D-серином. С помощью инфракрасной (ИК) спектроскопии и метода однофотонного счета выявлены изменения конформации белка при активации обоих типов DAAO, что свидетельствует о конформационных переходах не только во флавине, но и в молекуле белка. Автором выполнен большой объем экспериментальной работы с привлечением современных физических методов и методов молекулярной и клеточной биофизики, в т.ч. ИК-, КР- и ГКР-спектроскопия, пикосекундная флуоресценция. Выводы, положения, выносимые на защиту, обоснованы и логично вытекают из полученных результатов. По теме диссертационной работы опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных изданиях.

Тем не менее, возникли следующие вопросы и замечания к тексту автореферата диссертации.

1. Чем обусловлен выбор дрожжей *H. polymorpha* DL1?
2. В разделе «Результаты и их обсуждение» несколько раз упоминается, что подходящие сайты рестрикции были определены с помощью программы NEB cutter, однако данная программа не упоминается в разделе «Материалы и методы» и не описано, как именно использовали указанную программу.
3. На рис. 7 нет описания, каким колебаниям соответствует полюса 1355 см^{-1} , имеющая наибольшую интенсивность на представленном ГКР-спектре. Также в описании к рис. 7 указана не только длина волны лазера, но и дополнительная длина волны 800 нм. Что означает «длина волны 800 нм»?
4. По какой методике проводили деконволюцию для характеристики вторичной структуры белка?
5. В тексте работы содержатся аббревиатуры и сокращения, которые не расшифрованы, например, FAD (стр.3); а.к., SERS, ИК (стр. 4); КР (стр. 5); pk DAAO и Н.р. DAAO

(стр. 6); Cre-lox (стр. 8); IR, ПЦР (стр. 9); п.н., MCS (стр. 10); YNB (стр. 12); DAO/DOA (стр. 21) и др.; встречаются опечатки, например, «цента фермента» (стр. 4), «конофрмации флавина» (стр. 5), «были созданы конструкцию» (стр. 21) и др.

Указанные замечания не снижают общей ценности представленной работы и не умаляют значимости диссертационного исследования.

В заключении отмечу, что диссертационная работа Лю Вэньсюэ соответствует специальности 1.5.2. «Биофизика», а именно следующим ее направлениям: биофизика клетки. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2 «Биофизика» (по биологическим наукам) и критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Лю Вэньсюэ заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 «Биофизика».

Семенова Анна Александровна,

кандидат химических наук по специальностям 02.00.21 – химия твердого тела и 02.00.01 – неорганическая химия, ассистент кафедры наноматериалов, факультет наук о материалах, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова.

Адрес: 119991, Россия, Москва, Ленинские Горы, д. 1, стр. 73.

Сайт: <http://www.fnm.msu.ru/>

Тел: +7(495)939-45-51

«17» марта 2025 г.

(подпись)

Подпись Семеновой А.

Анна Семенова
Бермуды В