

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Лю Вэньсюэ «Исследование молекулярных свойств D-аминокислотной оксидазы» по специальности 1.5.2. Биофизика (биологические науки)

Актуальность темы исследования. Диссертационная работа Лю Вэньсюэ посвящена исследованию молекулярных механизмов действия фермента, D-аминокислотная оксидазы (DAAO), который представляет собой FAD-содержащий флавопротеин, катализирующий стереоспецифическое окислительное дезаминирование D-аминокислот (D-AA) до альфа-кетокислот и аммиака. Ко-субстратом является кислород, который в ходе реакции превращается в перекись водорода. DAAO выполняют важные функции в клетках и находят широкое практическое применение в биотехнологии. В клетках организма человека DAAO участвуют в синтезе нейромедиаторов, а изменения активности DAAO и концентрации D-AA сопровождается патогенез ряда заболеваний (шизофрения, болезни Альцгеймера и Паркинсона). У низших эукариот ферменту отводится важная функция: клетки грибов и дрожжей используют D-AA в качестве источника углерода и азота. Ферменты DAAO, из разных источников, характеризуются различной чувствительностью к pH, температуре, а также величиной K_M и удельной активностью фермента по отношению к различным субстратам.

В связи с этим исследование, проведенное Лю Вэньсюэ, цель которого сформулирована как исследование физиологической роли ферментов DAAO у дрожжей *H. polymorpha* DL1, кодируемых разными генами и физико-химические свойства белка при активации фермента, является, безусловно, актуальным, а полученные диссертантом данные имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.

В ходе проведенного исследования Лю Вэньсюэ был получен набор мутантных штаммов *H. polymorpha* DL-1 с нарушением генов, кодирующих DAAO. Разработанный подход инактивации гена оксидазы D-аминокислот в дрожжах *H. Polymorpha* использован для получения нокаутных генов DAAO, их генетической и физиологической характеристики, а также для подтверждения субстратной специфичности оксидазы *H. polymorpha* и изучения конформации белков и флавинов *in vitro*. Отмечу, что автором впервые было доказано, что при взаимодействии флавина DAAO с субстратом происходит изменение его конформации, связанное с

изменением координации активного центра фермента по отношению к молекуле аминокислоты. Важно, что при взаимодействии ДААО с D-аланином изменения конформации флавина происходят в течение более короткого промежутка времени, чем при взаимодействии с D-серином, что объясняет механизм субстратной специфичности ДААО. С помощью современных методов, ИК-спектроскопии и метода однофотонного счета Лю Вэньсюэ были выявлены изменения конформации при активации обоих типов ДААО, что свидетельствует о конформационных переходах не только во флавине, но и в молекуле белка.

В заключении отмечу, что диссертационная работа Лю Вэньсюэ соответствует специальности 1.5.2. «Биофизика», а именно следующим ее направлениям: биофизика клетки. Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. 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), а также 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».

Берестовская Юлия Юрьевна,
Кандидат биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология, научный
сотрудник лаборатории реликтовых микробных сообществ.
Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного
учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук».

Адрес: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д.33, стр. 2.

Сайт: <http://fbras.ru>

Тел: 8(499)135-21-39

«18» апреля 2025 г.

Подпись Берестовской Ю.Ю. заверяю
Доктор биологических наук
Заместитель Ученого секретаря ФИЦ
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН



Мысякина Ирина Сергеевна