

Заключение диссертационного совета МГУ.015.10

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от 16.10.2024 года № 3

О присуждении Шестаку Никите Викторовичу, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изучение каталитической и бактериолитической активности рекомбинантного белка лизостафина из *Staphylococcus simulans*» по специальности 1.1.10 «Биомеханика и биоинженерия» принята к защите диссертационным советом 03.09.2024, протокол № 1.

Соискатель Шестак Никита Викторович, 1996 года рождения, в 2019 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА - Российский технологический университет». Закончил аспирантуру факультета биоинженерии и биоинформатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», срок обучения – 1.10.2019-30.09.2023 года. Соискатель работает лаборантом-исследователем в лаборатории биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель - доктор биологических наук, профессор Карягина-Жулина Анна Станиславовна, главный научный сотрудник лаборатории биологически активных наноструктур Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

1. Пометун Анастасия Александровна, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией молекулярной инженерии Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Институт Биохимии имени А.Н. Баха,

2. Демидюк Илья Валерьевич, доктор химических наук, доцент, начальник лаборатории функциональной энзимологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»),
3. Долгих Дмитрий Александрович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией инженерии белка Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их высокой компетентностью в области белковой инженерии с целью создания белков с требуемыми свойствами и исследования их свойств, а также наличием большого количества публикаций в ведущих российских и зарубежных рецензируемых научных изданиях по тематике диссертации соискателя.

Соискатель имеет 5 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 4 работы, из них 4 статьи, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.1.10 «Биомеханика и биоинженерия».

Основные публикации по теме диссертации (в скобках приведен объем публикации и вклад автора в печатных листах):

1. Grishin, A.V. The influence of dimerization on the pharmacokinetics and activity of an antibacterial enzyme lysostaphin. / A.V. Grishin, N.V. Lavrova, A.M. Lyashchuk, N.V. Strukova, M.S. Generalova, A.V. Ryazanova, N.V. Shestak, I.S. Boksha, N.B. Polyakov, Z.M. Galushkina, L.A. Soboleva, S.S. Vetchinin, V.M. Pavlov, A.S. Karyagina, V.G. Lunin // *Molecules*. — 2019. — Vol. 24, № 1879. — P. 1—13. JIF (для WoS) = **4.2**, (1,50/0,27);
2. Grishin, A.V. Fusion of lysostaphin to an albumin binding domain prolongs its half-life and bactericidal activity in the systemic circulation / A.V. Grishin, N.V. Shestak, N.V. Lavrova, A.M. Lyashchuk, L.I. Popova, N.V. Strukova, M.S. Generalova, A.V. Ryazanova, N.B. Polyakov, Z.M. Galushkina, L.A. Soboleva, I.S. Boksha, A.S. Karyagina, V.G. Lunin // *Molecules*. — 2019. — Vol. 24, № 2892. — P. 1—14. JIF (для WoS) = **4.2**, (1,62/0,42);
3. Grishin, A.V. A simple protocol for the determination of lysostaphin enzymatic activity / A.V. Grishin, S.V. Konstantinova, I.V. Vasina, N.V. Shestak, A.S. Karyagina, V.G. Lunin // *Antibiotics*. — 2020. — Vol. 9, № 917. — P. 1—10. JIF (для WoS) = **4.3**, (1,16/0,52);

4. Shestak, N.V. The choice of chromatographic resin for the purification of recombinant lysostaphin affects its activity / N.V. Shestak, A.V. Grishin, A.M. Lyashchuk, V.G. Lumin, A.S. Karyagina // *Protein Expression and Purification*. — 2023. — Vol. 207, № 106274. — P. 1—6. JIF (для WoS) = 1.4, (0,69/0,55).

На диссертацию и автореферат поступило 3 дополнительных отзыва, все положительные.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение задач, имеющих значение для развития биомеханики и биоинженерии, в частности исследованы соотношения между каталитической, пептидогликанолитической и бактериолитической активностями рекомбинантного антибактериального лизина лизостафина, которые, в совокупности с результатами исследования влияния никель-хелатных хроматографических сорбентов на активность получаемых препаратов белка, могут быть использованы при разработке новых эффективных антибактериальных препаратов на основе лизинов, в том числе и препаратов, создаваемых с помощью биоинженерных подходов.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Разработанный метод на основе хромогенной реакции с нингидрином с использованием изолированного пентаглицина в качестве субстрата позволяет определять уровень каталитической активности рекомбинантного лизостафина.
2. Установленный линейный характер зависимости уровня, как пептидогликанолитической, так и бактериолитической активности лизостафина от уровня его каталитической активности показывает целесообразность улучшения характеристик каталитической части генно- инженерных химерных лизинов на его основе для разработки новых эффективных антибактериальных лекарственных соединений.
3. Использование никель-хелатных хроматографических сорбентов с относительно слабым связыванием ионов Ni^{2+} частицами сорбента для очистки препаратов белка приводит к существенному уменьшению как каталитической, так и бактериолитической активности лизостафина из-за изменения количества и/или состава каталитических ионов металлов в его активном центре.
4. Разработанный метод обработки лизостафина ЭДТА для удаления всех ионов металлов из активного центра фермента с последующим встраиванием в его активный

центр нативного иона Zn^{2+} позволяет восстановить уровень активности рекомбинантного лизостафина и может быть применим для других цинк-содержащих ферментов.

На заседании 16.10.2024 года диссертационный совет принял решение присудить Шестаку Никите Викторовичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них докторов наук по специальности 1.1.10 «Биомеханика и биоинженерия» - 6, участвовавших в заседании, из 16 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» – 13, «против» – 0, «недействительных бюллетеней» – 0.

Председатель совета, д.х.н., проф.



Швядас В. К.

Ученый секретарь совета, к.х.н.



Шаповалова И. В.

21.10.2024

