

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Шестака Никиты Викторовича
«Изучение каталитической и бактериолитической активности рекомбинантного
белка лизостафина из *Staphylococcus simulans*»

на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия

Диссертационная работа Шестака Никиты Викторовича посвящена исследованию каталитической и бактериолитической активности антибактериального лизина – лизостафина – и выявлению взаимосвязи этих активностей. Исследование носит методологический характер и практически значимо для разработки новых антибактериальных средств на основе белков, в том числе против антибиотикоустойчивых штаммов золотистого стафилококка. Исследование Н.В. Шестака открывает перспективы для дальнейшего изучения и внедрения таких белковых агентов в терапевтические препараты для решения глобальной проблемы современного здравоохранения – лечения и профилактики заболеваний, вызываемых антибиотикорезистентными штаммами патогенных бактерий.

В результате работы автором были разработаны и апробированы методики исследования каталитической активности лизостафина, изучен метод восстановления его активности после хроматографической очистки, а также описано влияние никель хелатной хроматографии на активность получаемого препарата фермента. Изучая каталитические свойства белка, автор показал зависимость бактериолитической и пептидогликанолитической активностей лизостафина от его каталитической эффективности. Результаты, выносимые Шестком Н.В. на защиту, обоснованны и подкреплены результатами экспериментов, хорошо оформлены и объяснены в тексте.

Работу Шестка Н.В. можно поделить на три части. В первой части автором представлена разработанная им методика определения каталитической эффективности лизостафина с использованием пентаглицина и хромогенной реакции с нингидрином. Данная методика активно используется соискателем в его дальнейших исследованиях.

Вторая часть работы посвящена непосредственно исследованию каталитической, пептидогликанолитической и бактериолитической активностей лизостафина. Для этого была использована панель вариантов рекомбинантного лизостафина с ионами различных металлов в его активном центре. Интересным результатом данных исследований является то, что активности вариантов лизостафина изменялись в различной степени в зависимости от иона металла в активном центре фермента. Также необычным результатом, по моему мнению, является взаимодействие между компонентами реакционной среды и ионами марганца и кобальта в активном центре лизостафина, причем, это взаимодействие приводит к различному снижению активности лизостафина.

Последняя часть работы тесно связана с результатами второй. Сниженная активность препарата лизостафина с ионами никеля позволила сделать автору вывод о том, что причиной этому является выделение лизостафина с использованием никель-

хелатной аффинной хроматографии. Данное предположение было проверено и подтверждено при помощи препаратов белка, полученных с использованием различных хроматографических сорбентов. Автор предлагает два альтернативных способа для того, чтобы избежать наблюдаемого явления. Первым способом является разработанная методика восстановления активности лизостафина путем удаления всех ионов металлов при помощи ЭДТА с последующим встраиванием нативного иона цинка. Вторым способом, и, вероятно, менее предпочтительным, является использование цинк-хелатного сорбента или никель-хелатного сорбента с высокой силой связывания ионов металла частицами сорбента.

Диссертация Шестака Н.В. представляет собой законченное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Небольшим замечанием к автореферату является сложная формулировка в конце первого абзаца в пункте 2.2 (стр. 18) «... в реакционную среду добавляли раствор бычьего сывороточного альбумина (BSA), также обработанного ЭДТА (BSA-E) для удаления из него ионов металлов, способных влиять на активность лизостафина», которая может ввести читателя в заблуждение, что в среду зачем-то добавляли два вида альбумина (обработанный и необработанный ЭДТА).

Указанное замечание не является критическим для положительного оценивания представленной работы. Результаты, изложенные в кандидатской диссертации Шестка Н.В., представляют ценность как для фундаментальной биоинженерии, так и для прикладной области разработки противомикробных препаратов на основе антибактериальных лизинов. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода, а ее содержание соответствует паспорту специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия (по биологическим наукам) и критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова

Исходя из этого, я считаю, что соискатель Шестак Никита Викторович достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.1.10. Биомеханика и биоинженерия.

Кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией химической регуляции биокатализа Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

Кандидат химических наук (03.01.03 – Молекулярная биология),
ведущий научный сотрудник,
рук. лаборатории химической регуляции биокатализа
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук (ИМБ РАН)
Сольев Павел Николаевич

Почтовый адрес: 119991, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

Тел. раб: +7(499)135-9858

Факс: +7(499)135-1405

Электронная почта: solyev@eimb.ru

Сольев Павел Николаевич



(подпись)

«30» сентября 2024 г.

Подпись П.Н. Сольева заверяю:

Коновалова Е.В.

Ученый секретарь ИМБ РАН,



(подпись)