

ОТЗЫВ
официального оппонента
на диссертационную работу Растриги Николая Владимировича
«Низкомолекулярные эффекторы лизоцима: влияние на активность
фермента и его адсорбцию на бактериальных клетках»
на соискание учёной степени кандидата химических наук
по специальности 1.5.4. Биохимия

Проблема антибиотикорезистентности бактерий, обострившаяся в последние десятилетия, относится к одним из серьезнейших вызовов современности. Разработка новых антибиотиков требует огромного количества материальных вложений и времени, поэтому использование природных бактериолитических ферментов (таких как лизоцим) в борьбе с антибиотико-резистентными штаммами является крайне перспективным альтернативным путем решения проблемы приобретенной невосприимчивости бактерий к антибиотикам. Однако эффективность бактериолитических ферментов также ограничена рядом естественных причин. Существуют различные химические модификации субстрата лизоцима – пептидогликана, которые бактерии используют для того, чтобы не допустить лизис своих клеток лизоцимом или иными бактериолитическими факторами. В своей работе соискатель предлагает использовать сочетания низкомолекулярных веществ, способные повысить эффективность антибактериального действия лизоцима как *in vivo*, так и в составе натуральных консервантов, лекарственных и антисептических средств. Таким образом, актуальность темы настоящей научно-квалификационной работы не вызывает никаких сомнений.

В рамках своей диссертации соискатель впервые показал, что ряд сочетаний аминокислот существенно увеличивают скорость лизиса бактериальных клеток как человеческим, так и куриным лизоцимами в широком диапазоне условий, в том числе в присутствии высоких концентраций ионов кальция, препятствующих ферментативному лизису бактерий. Была установлена корреляция между значениями параметров адсорбции лизоцима на живых бактериальных клетках в присутствии эффекторов и соответствующими начальными скоростями ферментативного лизиса клеток. Автор приводит значение коэффициента данной корреляции. В работе предполагается, что аминокислоты связываются с поверхностью лизоцима в областях, где экспонированы радикалы остатков ароматических аминокислот. Все сделанные соискателем выводы основаны на методически грамотных и воспроизводимых экспериментах и четко сформулированы. Достоверность представленных в диссертации экспериментальных данных и выводов определяются использованием современных методов исследования и статистической обработкой результатов.

По материалам диссертационной работы опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базе ядра Российского индекса научного цитирования «eLibrary Science Index» и в базах «Scopus» и

«Web of Science», а также 3 публикации в сборниках конференций, индексируемых в базе «Scopus». Результаты диссертационной работы представлены на 11 научных российских и международных конференциях.

Диссертационная работа Растриги Николая построена по традиционной схеме и состоит из следующих разделов: «Введения», «Обзора литературы», «Материалов и методов», «Результатов и обсуждения», «Заключения», а также «Списка литературы», состоящего из 356 ссылок. Диссертация изложена на 171 странице, содержит 41 рисунок и 16 таблиц. Иллюстрации понятны и наглядны, не вызывают нареканий. Список литературы оформлен корректно.

В своем литературном обзоре автор подробно описывает функции и строение лизоцима, структуру клеточной стенки бактерий, особенно *E. coli*, отдельно рассматривает транспортные системы аминокислот в бактериях, описывает природные функции и медицинское приложение используемых в работе эффекторов, а также сравнивает различные методы исследования ферментативного лизиса, выделяя метод турбидиметрии как наиболее подходящий для решения задач данной исследовательской работы. Отмечу, что автор в своей диссертации исследует весьма сложные явления. Как становится понятно в ходе прочтения главы «Обсуждение и результаты», величины наблюдаемых эффектов изменения скорости лизиса клеток лизоцимом в присутствии аминокислот и ионов кальция зависят от множества факторов: концентрации добавляемых эффекторов, наличия или отсутствия других эффекторов, а также меняются в зависимости от значений pH, ионной силы буферного раствора и его состава. В диссертации наглядно демонстрируется, что ферментативный лизис пяти из представленных бактерий различных видов и различных штаммов восприимчивы к влиянию смесей аминокислот, а пяти других – нет.

Отмечая высокий уровень, глубину и тщательность исполнения диссертационной работы, следует сделать некоторые не критические замечания и задать вопросы, которые хотелось бы прояснить в ходе публичной защиты.

Замечания:

1. Хотелось рекомендовать диссертанту в дальнейшем в таблицах указывать не только средние значения тех или иных параметров и соответствующие ошибки, но также достоверность.
2. В разделе «Список литературы» из 356 ссылок 162 (т.е. 46%) относится к источникам, опубликованным за последние 15 лет. Хотелось бы увидеть большее их количество.
3. В разделе «Основные результаты и выводы» диссертант отразил не все свои достижения, представленные в работе.
4. В тексте автореферата и диссертационной работы встречаются отдельные некорректные выражения, грамматические и пунктуационные опечатки. Например, в диссертации на страницах 11,17,25,111.

Вопросы:

1. Диссертант в своем литературном обзоре пишет, что глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа является перспективным маркером для определения доли лизированных клеток. Автор не приводит недостатков метода определения его активности, однако не использует в своей работе. Почему?
2. Какие штаммы бактерий были использованы для исследований музейные или нативные?

Высказанные некритические замечания и поставленные вопросы являются уточняющими и дискуссионными, они не затрагивают основной сути проделанной работы и не снижают ее научную и практическую ценность.

Таким образом, диссертационная работа Растриги Николая Владимировича: «Низкомолекулярные эффекторы лизоцима: влияние на активность фермента и его адсорбцию на бактериальных клетках» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на большом экспериментальном материале с использованием современных методов исследований. По актуальности, объему проведенных исследований, их новизне и глубине анализа полученных результатов, их научной и практической значимости диссертация полностью отвечает требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

профессор кафедры химии имени профессоров С.И. Афонского, А.Г. Малахова факультета биотехнологии и экологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина»
доктор биологических наук, доцент
Азарнова Татьяна Олеговна



Контактные данные:

Тел: 8-495-377-91-32, адрес электронной почты: chemistry@mgavm.ru
Специальности, по которым официальным оппонентом была защищена диссертация: 06.02.05 – ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно – санитарная экспертиза; 03.01.04 – биохимия.
Адрес места работы: 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23

Подпись Азарновой Т.О. заверяю:

Подпись



заверяю Начальник админ.



" 24 " апреля

