

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

Диссертационная работа Растриги Николая Владимировича, представленная на защиту, посвящена исследованию совместного и раздельного влияния ряда низкомолекулярных эффекторов (глицина и заряженных аминокислот, а также ионов кальция) на лизис живых бактериальных клеток куриным и человеческим лизоцимами. Эффект активации лизоцима в присутствии аминокислот был обнаружен сравнительно недавно, и настоящая работа является его логическим экспериментальным развитием. Бактериолитический фермент лизоцим является важным компонентом гуморального иммунитета животных, а также ключевым ферментом, обеспечивающим рост и деление бактерий и внедрение бактериофагов в клетку-хозяина. Лизоцим обладает достаточно широким спектром субстратов (бактерий), в том числе антибиотикорезистентных, чьи клеточные стенки восприимчивы к его лизирующему воздействию. В контексте поиска новых альтернативных путей борьбы с антибиотикорезистентностью бактерий нахождение новых способов увеличения бактериолитической активности лизоцима, однозначно, является актуальной практической задачей.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в работе, обусловлены большим объемом исследований, использованием точных инструментальных методов, проведением повторных и контрольных измерений, а также использованием методов математической статистики. Полученные результаты являются достаточными для формулирования представленных выводов. Научная новизна диссертационного исследования подтверждается публикацией 4 статей 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 публикаций в сборниках конференций, индексируемых в базе «Scopus». Кроме того, результаты диссертационной работы представлены на 11 научных российских и международных конференциях.

Диссертационная работа изложена по традиционному плану на 171 странице и включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследований, результаты и их обсуждение, заключение и список литературы. Отмечу достаточно большое количество ссылок на литературные источники – 356. Диссертация хорошо иллюстрирована 41 рисунком и сопровождается 16 таблицами.

Введение отражает цель и задачи диссертационной работы, новизну и практическую значимость, оценку степени достоверности и описание апробации работы, содержит положения, выносимые на защиту, сведения о публикациях, отражающих основные результаты работы. Обзор литературы посвящен описанию куриного и человеческого лизоцимов, биохимии и особенностям бактерии *E. coli*, строения бактериальной клеточной стенки, химических модификаций главного структурного компонента клеточной стенки – пептидогликана, примеров регуляции фермента эффекторами (в особенности лизоцима), методам регистрации бактериолитической активности с акцентом на метод турбидиметрии, а также адсорбции лизоцима на бактериальных клетках. Обзор литературы характеризуется широтой рассмотренного материала, хорошей структурированностью, живым и доступным языком изложения и наглядными иллюстрациями.

Изложение методов исследования и статистической обработки в главе «Материалы и методы» дано чётко и ясно, что даёт возможность воспроизвести проведенные эксперименты. Экспериментальная часть работы выполнена на высоком методическом уровне. Автор в своей работе сочетает методы турбидиметрии, спектрофлуориметрии и компьютерного моделирования. Стоит отметить, что работа с бактериальными культурами как со сложными объектами биохимического исследования, всегда связана с большой затратой сил и времени, поэтому количество проведенных автором экспериментов с живыми бактериальными клетками впечатляет. Для демонстрации влияния на лизис бактерий разных факторов и условий автор проводит большое число экспериментов, варьируя концентрации эффекторов

в их разных сочетаниях, рН, ионную силу, компоненты буферных растворов, что требует от экспериментатора большого терпения и скрупулёзности. Такой подход к экспериментальной работе, выбранный диссертантом, не оставляет сомнений в воспроизводимости обнаруженных им эффектов активации лизоцима.

Основные результаты и выводы сформулированы конкретно и обоснованы полученными экспериментальными данными. Список литературы охватывает достаточно широкий период времени: самая ранняя ссылка датирована 1966 годом, а самая поздняя 2024 годом.

Несмотря на то, что диссертационная работа произвела в целом позитивное впечатление, буду вынужден высказать некоторые замечания:

1. В разделе «Результаты и обсуждение» на странице 64 работы на рисунке 13 представлены графики зависимостей поглощения клеточных суспензий от концентрации колониеобразующих единиц. Зависимости имеют линейный характер, что говорит о правомерности применения турбидиметрического метода для оценки скорости лизиса клеток. Судя по тексту работы, данные прямые были получены непосредственно в ходе одного из экспериментов по изучению кинетики лизиса клеток. Каждая точка графика соответствует вполне определенному моменту времени процесса, что, к сожалению, не отражено ни в подписи под рисунком, ни в содержащем на него ссылке тексте.
2. На мой взгляд, формулировка термина «максимальная сорбционная емкость» избыточна, поскольку слово «максимальная» подразумевает существование иной, промежуточной сорбционной емкости. Однако же сорбционная емкость сама по себе указывает на предельное (т.е. максимальное) количество фермента, способного связаться с поверхностью клетки. Таким образом, слово «максимальная» здесь лишнее.
3. В тексте встречается некоторое количество опечаток, не мешающих, однако, его восприятию.

Высказанные замечания никоим образом не умоляют общее положительное впечатление от представленной диссертационной работы.

Заключение

Диссертация Растриги Николая Владимировича полностью отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к научно-квалификационным работам. Диссертационная работа соответствует специальности 1.5.4. Биохимия, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Растрига Николай Владимирович, несомненно, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

доцент кафедры аналитической, физической и коллоидной химии
Института фармации им. А.П. Нелюбина
ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет),
кандидат химических наук, доцент

Пометун Евгений Владимирович

29/IV/2025

Контактные данные:

Телефон: 8-495-609-14-00, E-mail: pometun_e_v@staff.sechenov.ru

Специальности, по которым официальным оппонентом была защищена диссертация: 02.00.15 – Катализ, 03.00.23 – Биотехнология

Адрес места работы: 119048, г. Москва, улица Трубецкая, д. 8, стр. 2

Подпись Пометуна Е.В. заверяю:



качественно
отвечает
В.Н. Бобров