

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Константинова Михаила Александровича «Протеолитические свойства секретрируемых ферментов представителей рода *Lysobacter*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия»

Представленный автореферат на соискание степени кандидата биологических наук посвящён актуальной теме – исследованию свойств протеолитических ферментов, а именно характеристике участков гидролиза субстратов и оценке параметров кинетики гидролиза с применением методов полуквантитативной масс-спектрометрии. Данная тематика является важной как для детального исследования специфичности выделенных из природных источников ферментов, так и для деорфаннизации белков с потенциальной ферментативной активностью. Последнее особенно важно для поиска новых ферментов как для нужд науки (например, как новые инструменты для протеолиза белков в протеомных исследованиях), технологий с использованием энзимов (например, для пищевой промышленности, производства мощющих средств), так и для медицины (как, например, потенциальные мишени для создания лекарств, агентов с антимикробными и гемолитическими свойствами).

Для своей работы Константинов М.А. выбрал два бактериальных фермента Vpr и L5, выделенных из бактерий рода *Lysobacter*, для которых он показал специфичность участков катализа и оценил параметры кинетики ферментативного процесса. Эти данные позволяют проводить поиск как потенциальных бактериальных субстратов и понять биологическую значимость данного фермента для *Lysobacter*, так и оценить круг потенциальных мишеней данного фермента для применения в науке и биотехнологии. Автором показано, что Vpr гидролизует преимущественно по остаткам глицина и лизина, а L5 – менее специфичен.

Для оценки аминокислотного контекста участков гидролиза по данным масс-спектрометрических экспериментов, автором разработан и применён алгоритм, реализованный в программе CleaveScore. На основании данных по изотопному обмену  $H_2^{18}O$  с применением МАЛДИ автором определены кинетические параметры протеолиза. Разработанные и применённые автором методические подходы и инструменты, могут иметь широкое применение и быть использованы для оценки параметров других протеаз.

Автореферат написан по классической схеме и содержит разделы: Общая характеристика работы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение, Выводы, Список опубликованных работ и материалов конференций, а также приведен Список условных обозначений и сокращений. Материал изложен логично и последовательно, что позволяет получить целостное представление о выполненной работе и её основных результатах.

Несмотря на вышеперечисленные достоинства работы в ней есть некоторые недостатки:

1. В тексте автореферата отсутствует информация об используемых препаратах ферментов, с которыми работал автор: их чистота, наличие/отсутствие пост-трансляционных модификаций фермента, наличие/отсутствие автолиза и др.
2. Неожиданно присутствует одна ссылка 116, информация о которой отсутствует.
3. Не всегда подпisi к таблицам самодостаточны для понимания. Так, из подпisi к Таблице 1 неясно о каких сайтах идет речь? Приведены списки одиночных аминокислот и только в тексте можно найти, что это позиция P1.

Основной вопрос, который бы хотелось задать автору диссертации в рамках научной дискуссии, состоит в следующем. В предложенной автором методике использования выделенных протеомов и нормировке частот как на общий протеом организма, так и на

список белков, идентифицированных в эксперименте, есть один существенный недостаток. По сравнению с методом синтетических пептидных библиотек, где пептиды представлены эквимолярно, данный метод представлен одними участками и недопредставлен другими, также количество одних белков (и сайтов связанных с ними) гораздо больше, чем других. Учитывая, что для ферментативной реакции нужно учитывать ряд параметров – наличие субстрата, его концентрацию и аффинность к ферменту, возникает эффект «специфичности сайта от образца». Т.е. один и тот же фермент, инкубированный с разными образцами протеомов будет давать разные частоты аминокислот в участках расщепления и, как результат, разную измеренную специфичность.

Как автор предлагает учитывать такое смещение данных в своем методе измерения?

Тем не менее, данные полученные автором и их научная новизна и достоверность не вызывают сомнения, а перечисленные недочеты не влияют на оценку работы. Поэтому диссертационная работа Константина Михаила Александровича «Протеолипидические свойства секретрируемых ферментов представителей рода *Lysobacter*» является завершённой научно-исследовательской работой, содержащей новые фундаментальные и практические результаты. Работа выполнена на высоком научном уровне и полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор, Константин Михаил Александрович, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. – «Биохимия».

«07» апреля 2026 г

Ключников О.И.

Отзыв предоставил

Олег Игоревич Ключников,

старший научный сотрудник Кафедры Биохимии

Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова,

к.б.н., 03.01.03 - молекулярная биология

119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,

Биологический факультет МГУ

тел.: +7(977) 871 44 86

e-mail: [oklych@gmail.com](mailto:oklych@gmail.com)

