

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Дарьи Андреевны Матолыгиной на тему «Бактериолитические свойства интерлейкина-2 человека», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Актуальность темы диссертационной работы Д.А. Матолыгиной никаких сомнений не вызывает, поскольку затрагивает изучение необычной бактериолитической активности интерлейкина-2 человека. Роль интерлейкина-2 в качестве одного из ключевых цитокинов иммунной системы известна и подробно изучается во многих лабораториях мира. Дополнительная бактериолитическая функция интерлейкина-2 не менее важна и интересна, поскольку ее наличие заставляет по-новому оценивать положительное воздействие этого белка на протекание ряда патологических процессов. Основные вопросы, которые возникают при анализе двух активностей интерлейкина-2, касаются эволюционных аспектов. Очень любопытно, какая из функций – модуляция иммунного ответа или бактериолитическое действие - возникла в начале и как эти функции взаимосвязаны. Хотя в работе основное внимание уделено бактериолитическим свойствам интерлейкина-2, включая прикладные аспекты, однако сделанные наблюдения могут внести важный вклад в выяснения механизмов столь разнопланового действия интерлейкина-2. По указанным причинам представленная диссертационная работа является весьма актуальным исследованием.

Диссертация Д.А. Матолыгиной изложена на 145 страницах. Диссертация состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и их обсуждение и Выводы. Работа включает также список используемых сокращений, благодарности и список цитируемой литературы, который содержит 414 ссылок.

Диссертация хорошо иллюстрирована 39 рисунками и 7 таблицами. По материалам диссертационной работы опубликовано 6 статей в журналах, индексируемых в Web of Science. Опубликовано также тезисы 13 докладов на всероссийских и международных конференциях.

Хорошо и четко написано «Введение» к работе, которое позволяет оценить состояние проблемы и вклад автора диссертации в разработку еще не решенных задач.

Обзор литературы написан интересно и позволяет оценить вклад диссертанта в исследуемую проблему. В обзоре подробно разобрана информация о бактериолитических факторах и описаны свойства двух основных объектов исследования – лизоцима и интерлейкина-2. Особое внимание уделено методам регистрации бактериолитической активности, поскольку их разработка применительно к исследуемым объектам является одной из основных задач, решенных в работе. Описаны также свойства низкомолекулярных эффекторов, которые использовались в работе с целью выявления факторов, влияющих на лизис бактериальных клеток. Отдельный раздел посвящен характеристике бактерий, которые использовались в работе в качестве объектов действия лизоцима и интерлейкина-2. Основное замечание касается именно этого раздела. Мне кажется, что можно было бы не останавливаться на описании свойств довольно большого набора бактерий. Конечно, интересно узнать, что *Escherichia coli* получила свое имя в честь Теодора Эшериха, чего я, увы, не знал. Но можно было бы обойтись без набора общих сведений. Уж если описывать все бактерии, то в свете стоящих в данной работе проблем, нужно было бы описать состав и свойства их бактериальных стенок, какие-то более важные особенности строения. Информация о других свойствах бактерий не столь важна. Кстати, при описании этих свойств встречаются ошибки. Автор часто говорит о том, что данная бактерия «вызывает» некое заболевание, тогда как на самом деле данное заболевание вызывается другим специфическим микроорганизмом, а описываемая бактерия лишь усугубляет его течение (например, на стр. 49, 50, 51 и др.). На стр. 37 указано, что о лизисе клеток можно судить по выходу из них глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы по поглощению на 340 нм. Но не указано, что речь идет об определении активности этого фермента, а не о его собственном поглощении. На стр. 60 отмечено, что остатки лизина подвергаются ацетилированию, но не отмечена еще более важная и популярная модификация – гликирование. Мне кажется, что разумнее было бы ограничить круг вопросов, затронутых в обзоре, но сделать их обсуждение более обстоятельным.

В главе «Материалы и методы исследований» достаточно подробно изложены основные экспериментальные процедуры, которые применялись в ходе выполнения данной работы, а также штаммы использованных микроорганизмов. Хотелось бы только получить уточнение об определении активности (что именно измеряли?) и концентрации интерлейкина-2, так как иначе трудно понять фразу: «интерлейкин-2 из разных ампул с разной концентрацией имел одинаковую удельную активность». Нет никаких сомнений в том, что диссертант хорошо владеет используемыми методами, а достоверность полученных данных сомнений не вызывает (для этого достаточно посмотреть на представленные кривые).

В главе «Результаты и их обсуждение» понятно и логично изложены полученные автором результаты. Одно из основных достижений диссертанта – разработка простого метода, позволяющего с помощью турбидиметрического метода определить бактериолитическую активность. Автором проведены многочисленные эксперименты, включающие оценку бактериолитической активности другим, прямым методом. Учтены возможные сложности при использовании в качестве субстратов бактерий, обладающих разными характеристиками. Проведена математическая обработка полученных результатов. Все это позволит применять данный подход другими исследователями и важность этого раздела трудно переоценить.

Не менее интересны результаты, позволившие найти особенности бактериолитического поведения двух белков – хорошо известного бактериолитика лизоцима и интерлейкина-2, который относится к совершенно иному классу белков – цитокинам. Хотя сведения о бактериолитической активности интерлейкина-2 уже были в литературе, однако только полноценное исследование, осуществленное автором, позволяет сделать окончательный вывод о том, что этот белок способен лизировать бактериальную стенку.

Наиболее интересное наблюдение касается специфичности действия двух белков. Именно оно позволило сделать заключение о специфическом воздействии интерлейкина-2 на полимеры клеточных оболочек, содержащих диаминопимелиновую кислоту. Конечно, еще много предстоит узнать о свойствах интерлейкина-2 в качестве фермента бактериолитика, о специфичности его взаимодействия с клеточными стенками, о факторах, влияющих на это взаимодействие и т.д., однако первый, очень профессиональный и обстоятельный шаг на этом пути уже сделан. Важным для развития

работы в этом направлении являются полученные сведения об адсорбции интерлейкина-2 на поверхности клеток *E.coli*.

В целом экспериментальная часть работы производит очень хорошее впечатление. Есть несколько пожеланий по работе. Прежде всего, следовало бы уделить большее внимание оценке энзиматической активности интерлейкина-2. Например, проверить его действие на полимеры клеточных оболочек, содержащих диаминопимелиновую кислоту. В этом случае можно было бы с большей определенностью сделать вывод об отличиях в субстратной специфичности между интерлейкином-2 и лизоцимом. В целом хотелось бы большего внимания к свойствам интерлейкина-2 в качестве фермента, а не просто белка, взаимодействующего с бактериальными оболочками. Например, можно было бы оценить влияние использованных лигандов не только на бактериолитическую активность интерлейкина-2 и лизоцима, но и на свойства самих белков (конформацию, пространственную структуру, стабильность и так далее). В этом случае рассуждения о механизмах их влияния на бактериолитическую активность приобрели бы более фундаментальный характер. Нужно было бы более строго разделить влияние разных факторов (рН, ионной силы, лигандов) на свойства и структуру клеточной стенки от их влияние на поведение собственно белка - интерлейкина-2 или лизоцима.

Безусловно, сделанные замечания не умаляют ценности сделанной работы. Таким образом, можно с уверенностью сказать, что Дарьей Андреевной Матолыгиной была проведена большая, интересная и важная работа, полезная как с фундаментальной, так и с прикладной точки зрения. Основные результаты работы изложены в автореферате диссертации и опубликованы в рецензируемых научных журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus. Сделанные автором выводы полностью соответствуют полученным результатам.

Диссертация Дарьи Андреевны Матолыгиной отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.04 – биохимия, а также критериям, определяемым пп. 2.1–2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, и оформлено согласно Приложениям № 5, 6 «Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова».

Таким образом, соискатель Дарья Андреевна Матолыгина достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент:

заведующий отделом биохимии животной клетки Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,

доктор биологических наук, профессор

Владимир Израилевич Муронец



30 мая 2019г.

Специальность, по которой официальным
оппонентом была защищена диссертация:
03.01.04 – «биохимия»

Контактные данные:

адрес места работы: 119991 Москва, ул. Ленинские горы, д.1., стр. 40,

рабочий телефон: +7(495) 939-14-56,

рабочий e-mail: vimuronets@belozersky.msu.ru.

Подпись В.И. Муронца удостоверяю:

