ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Сейткалиевой Александры Валерьевны «Новая солеустойчивая щелочная фосфатаза из яйцеклеток морского ежа *Srtongylocentrotus intermedius*: свойства и применение» на соискание ученой степени ученой степени кандидата биологических наук п о специальности 03.01.04 – биохимия.

Научные исследования в области биохимии и молекулярной биологии за последние 30 лет наряду с классическими академическими чертами все чаще приобретают прикладную направленность, связанную с использованием фундаментальных исследований. Причем сферы практического применения биохимических и молекулярно-биологических знаний непрерывно расширяются, охватывая новые часто неожиданные стороны нашей жизни. Так помимо медицины и сельского хозяйства биохимические исследования стали использоваться и для экологического мониторинга – контроля за загрязнением окружающей среды.

Диссертационная работа А.В. Сейткалиевой «Новая солеустойчивая щелочная фосфатаза из яйцеклеток морского ежа *Srtongylocentrotus intermedius*: свойства и применение» как раз является хорошим примером синтеза фундаментального научного биохимического исследования – выделение и характеристика нового фермента – с прикладной практически значимой разработкой – тест-системы для мониторинга качества природных морских и пресных вод. В автореферате четко сформулированы поставленные цель и задачи исследования, аргументировано изложена актуальность работы и новизна и практическая значимость полученных результатов.

В работе описано выделение нового фермента – солеустойчивой щелочной фосфатазы. Разработанная диссертантом схема выделения с использованием 5-ти различных хроматографических стадий очистки позволила получить электрофоретически чистый белок с высокой удельной активностью. Результаты трипсинолиза с последующей масс-спектрометрией пептидов дают автору основание утверждать, что выделенный фермент является новым и не имеет аналогов в опубликованных базах данных.

Классические эксперименты по характеристике фермента: оптимум pH и температуры, влияние концентрации солей и определение металло-зависимости выполнены диссертантом профессионально и не вызывают нареканий. Очень интересен набор субстратов, который был взят диссертантом для определения субстратной специфичности – кроме традиционных фосфомоноэфиров типа п-НФФ, 5'-нуклеотидов и α-глицерофосфат Na здесь присутствуют циклофосфаты, АТФ и даже 5′-УДФ-глюкоза и бис-п-НФФ. Важной частью работы является исследование ингибирования активности

фермента, в том числе ионами тяжелых металлов. Фактически эта часть становится фундаментом дальнейшего практического применения фермента, предложенного автором.

Исследования пространственной структуры фермента оптическими методами дают нам представление скорее о научно-методическом кругозоре диссертанта, чем о реальной структуре белка и не имеют особого значения для дальнейшей работы.

Предложенная автором фосфатазная тест-система выглядит очень просто и изящно, однако она основана на полученных диссертантом фундаментальных исследованиях и не вызывает сомнений. Очень удачным решением считаю получение иммобилизованного препарата фермента, т к. оно позволяет стандартизировать получаемые результаты мониторинга загрязненности воды и упростить методическую подготовку анализа.

Выводы, сформулированные диссертантом на основании проделанной работы, соответствуют полученным экспериментальным данным и не вызывают сомнения.

Недостатки работы носят скорее редакторско-оформительский характер. Так считаю не очень удачным используемый диссертантом термин «солеустойчивая», т.к. многие щелочные фофатазы (из E.coli, из трески и др.) проявляют максимальную ферментативную активность при концентрации 1М NaCl или Трис-HCl и никто не выделяет эту особенность как «солеустойчивость». В табл.4 среди приведенных данных по субстратной специфичности сильно выделяется явно завышенная активность фермента в отношении 2',3'-цикло ГМФ. Если это не ошибка-опечатка в автореферате, то явно необходимы какие-то комментарии или объяснения. Выглядит удивительным и совсем необязательным в автореферате раздел «Материалы и методы» с подробным описанием методических деталей. Однако, в целом работа выполнена на хорошем методическом уровне и заслуживает положительной оценки.

Считаю, что диссертационная работа А.В. Сейткалиевой «Новая солеустойчивая щелочная фосфатаза из яйцеклеток морского ежа *Srtongylocentrotus intermedius*: свойства и применение» полностью отвечает требованиям в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., а ее автор, Сейткалиева Александра Валерьевна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 - биохимия.

Заведующий лабораторией изотопных методов
анализа ИБХ РАН, д.х.н. Скоблов Ю.С.
e-mail sur@ibch.ru , Москва, ул. Миклухо-Маклая,16/10, тел. +7(495)-336-26-41

Ученый секретарь ИБХ РАН,
Д.ф.-м.н. Олейников В.А.