

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Анастасии Владимировны Степашкиной “Бактериальная пенициллинацилаза: взаимосвязь структура – функция и получение одноцепочечной формы фермента”, представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям “03.01.04 – биохимия” и “03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)”.

Диссертационная работа Степашкиной А.В. посвящена изучению взаимосвязи структура – функция в пенициллинацилазе из бактерий *Alcaligenes faecalis*. Пенициллинацилаза (ПА) находит широкое применение на практике, главным образом для получения полусинтетических  $\beta$ -лактамных антибиотиков, оптически чистых энантиомеров, в том числе исходных соединений для синтеза лекарственных препаратов других фармакологических групп. По сравнению с известной и наиболее изученной ПА из *E.coli*, ПА из *A.faecalis* не так подробно исследована и обладает рядом преимуществ, в связи с чем является перспективным объектом научно-исследовательских работ, представляющим как теоретический, так и практический интерес.

ПА из *A.faecalis* дикого типа – это периплазматический гетеродимер, приобретающий активную форму в результате трехстадийной посттрансляционной модификации полипептида-предшественника, кодируемого геном ПА. В диссертационной работе Степашкиной А.В. осуществлена многосторонняя характеристика ПА из *A.faecalis* дикого типа и ряда ее мутантных форм, а также проведена инженерия четвертичной структуры и получено два варианта одноцепочечной формы ПА. Изучение каталитических свойств и термостабильности мутантных форм позволило установить закономерности влияния типа и локализации аминокислотных замен на биосинтез и свойства фермента. Получение одноцепочечной формы ПА имеет большое фундаментальное значение для науки, так как открывает новый взгляд на взаимосвязь структуры фермента и возможности его корректного фолдинга с формированием активного одноцепочечного псевдогетеродимера в другом компартменте бактериальной клетки - цитоплазме, при обратном порядке фолдинга субъединиц в отличных от нативного фермента условиях, включая окислительно-восстановительный потенциал и биохимический состав цитоплазмы, в том числе внутриклеточные шапероны и протеазы. С целью повышения количества одноцепочечной формы ПА автором была создана новая эффективная система экспрессии и проведена масштабная оптимизация условий культивирования рекомбинантного штамма-продуцента, разработана методика очистки, позволяющая получить высокоочищенный препарат фермента. Таким образом, был проведен большой объем экспериментальной работы и получены новые результаты, вносящие неоспоримый вклад в науку и способствующие развитию как теоретических

знаний о взаимосвязи структура-функция, так и для биотехнологии и химической энзимологии.

В заключение следует отметить, что диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне и представляет собой завершённое научное исследование. Автореферат и публикации соответствуют основным результатам работы. Работа удовлетворяет требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Степашкина А.В., несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальностям “03.01.04 – биохимия” и “03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)”.

зав. кафедрой химии природных соединений  
химического факультета  
ФГБОУ ВО "Московский государственный  
университет имени М.В. Ломоносова"  
академик РАН, доктор химических наук,

Донцова Ольга Анатольевна

Химический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”.

Адрес: 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 3.

Тел. 8 (495) 932-88-24, E-mail: dontsova@belozersky.msu.ru.

14 декабря 2017 г.

Подпись О.А. Донцовой заверяю

