ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Каргова Ивана Сергеевича «Структурно-функциональная характеристика бактериальной и растительной формиатдегидрогеназ», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.04 – биохимия и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология)

Диссертационная работа Каргова И.С. посвящена изучению бактериальной и растительной формиатдегидрогеназ (FDH) и получению мутантных форм этих ферментов с помощью рационального дизайна. Эти ферменты интересны как с точки зрения фундаментальной энзимологии для изучения механизма переноса гидрид-иона в активном центре различных дегидрогеназ, так и с точки зрения их использования в биотехнологии в процессах регенерации NADH, а также в аналитической биотехнологии при создании биосенсоров на формиат. Кроме того, повышение уровня FDH у ряда патогенных бактерий связано с образованием ими биопленок, и ингибирование этого фермента рассматривается как один из перспективных методов борьбы с биопленками.

В работе Каргова И.С. проведено клонирование двух вариантов гена FDH из бактерий *Staphylococcus aureus,* полноразмерного и укороченного, получены и охарактеризованы препараты высокоочищенных ферментов. С использованием методов белковой инженерии получены мутантные формы бактериальной (SauFDH из *S. aureus*) и растительной (SoyFDH из сои) формиатдегидрогеназ. Важным достижением данной работы является создание мутантных форм FDH, обладающих повышенной термостабильностью и каталитической активностью, а также установление роли отдельных аминокислотных остатков в поддержании структуры активного центра фермента и его термостабильности.

Представленные в работе экспериментальные данные получены с использованием широкого набора методов. Для получения ферментов с заданными свойствами был использован метод рационального дизайна, включающий анализ трехмерной структуры фермента, анализ выравнивания аминокислотных последовательностей ферментов из разных источников, поиск потенциальных мест для введения аминокислотных замен и оценка их эффекта с помощью компьютерного моделирования. Автором освоены методы направленного мутагенеза, клонирования и выделения рекомбинантных белков. Характеристика полученных препаратов проводилась с использованием кинетических подходов, физико-химических методов, а также рентгеноструктурного анализа. Полученные данные и их интерпретация не вызывают сомнений. Единственное замечание касается предположения о том, что природной формой SauFDH является более длинный

вариант белка, сделанного только на основании сравнения кинетических параметров ферментов.

Автореферат Каргова И.С. написан и оформлен достаточно аккуратно, но некоторые замечания к оформлению все-таки есть. Автор вводит и, в основном, использует англоязычную аббревеатуру названия фермента, FDH, однако в некоторых местах, включая выводы, используется также русскоязычное сокращение ФДГ. Приведенный в конце автореферата список из 54 публикаций, большая часть которых – тезисы конференций, следовало бы разбить на части: статьи, патенты и тезисы.

В целом, работа Каргова И.С. является завершенным научным исследованием, выполненным на высоком научном и методическом уровне. Результаты работы представляют несомненный интерес как для академических, так и отраслевых лабораторий биохимического и биотехнологического профиля, и могут найти применение в решении биотехнологических и биомедицинских задач. Указанные недостатки ни в коей мере не снижают ценности результатов проведенного исследования. Диссертация соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.04 – биохимия и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология).

Заведующая лабораторией биоорганической
химии ферментов ФГБУН ИХБФМ СО РАН,
член-корр. РАН, д.х.н., профессор _____О.И. Лаврик
11.12. 2017

Учреждение: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН ИХБФМ СО РАН)
Официальный адрес: 630090 Россия, г. Новосибирск, пр-т Лаврентьева, д. 8, ИХБФМ СО РАН
Тел. (383) 363-51-95, E-mail: lavrik@niboch.nsc.ru

Подпись О.И. Лаврик заверяю
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН, к.х.н. _____ П. Е. Пестряков