



БИОХИММАК ДИАГНОСТИКА

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО

119192, Москва, Ломоносовский
проспект д.29, к.1

Телефон: (495) 647-2740
Факс: (495)939-0997

www.biochemmack.ru
e-mail: info@biochemmack.ru

ОТЗЫВ

**На АВТОРЕФЕРАТ Булахова Александра Глебовича
«СВОЙСТВА ЛИТИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДМОНООКСИГЕНАЗ ИЗ
НИЗШИХ ГРИБОВ», представленный на соискание ученой степени
кандидата химических наук по специальностям 03.01.04 Биохимия,
03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)**

Представленная к защите работа «СВОЙСТВА ЛИТИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДМОНООКСИГЕНАЗ ИЗ НИЗШИХ ГРИБОВ» является актуальной, так как биотехнологическая конверсия многочисленных растительных отходов пока еще не является достаточно рентабельной. Основными препятствиями являются необходимость предобработки ЦСС и недостаточная эффективность ферментных комплексов.

Данная работа посвящена исследованию свойств ПМО из низших грибов (*Thielavia terrestris*, *Trichoderma reesei* и *Myceliophthora thermophila*), изучение синергизма между ПМО и целлюлазами при ферментативной деструкции ЦСС, а также получение нового грибного штамма-продуцента, секретирующего рекомбинантную ПМО в культуральную жидкость при сохранении в целом базового целлюлазного комплекса.

Научная новизна работы обусловлена тем, что до последнего времени не существовало метода определения активности ПМО в режиме начальных скоростей реакции, и литературные данные о биохимических и кинетических свойствах ПМО были крайне скудны. Кроме того, закономерности взаимодействия ПМО с отдельными компонентами целлюлазного комплекса также были исследованы недостаточно.

Научно-практическая значимость работы состоит в том, разработан новый оригинальный метод определения активности ПМО, основанный на измерении скорости потребления кислорода (СПК) в ходе ферментативной реакции с помощью высокочувствительных флуоресцентных сенсоров на кислород, используемых в анализаторе Seahorse XFp (Agilent, США). С помощью этого метода изучены субстратная специфичность, рН-зависимость активности, влияние различных доноров электронов на катализ ПМО. Также впервые осуществлен мониторинг в режиме реального времени процессов инактивации ПМО под действием ЭДТА с последующей реактивацией за счет введения в реакционную смесь ионов Cu^{2+} .

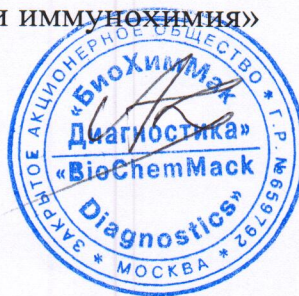
Получен новый штамм-продуцент *P. verruculosum*, осуществляющий гетерологичную экспрессию ПМО *T. reesei* при сохранении базового целлюлазного комплекса *P. verruculosum* в составе культуральной жидкости. Ферментный препарат на основе этого штамма способен к более эффективной деструкции лигноцеллюлозного субстрата (измельченной осиновой древесины).

Получен химерный белок, состоящий из ПМО *T. terrestris* и ЦСМ от ЦБГ I *P. verruculosum*. На основании исследования свойств этого химерного бека показано, что присоединение ЦСМ способствует увеличению активности ПМО по отношению к целлюлозе и ксилотриозу, а также расширяет субстратную специфичность фермента.

Работа оставляет хорошее впечатление логичностью построения и продуманностью методов, подходов и доказательств. Автореферат написан ясным и четким языком. По теме диссертации опубликовано 4 статьи (все опубликованы в отечественных и зарубежных журналах, входящих в Перечень ведущих рецензируемых журналов ВАК РФ) и 9 тезисов докладов на международных и российских конференциях. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений.

С учётом вышеизложенного по своей научной новизне, практической значимости и актуальности диссертационная работа Булахова Александра Глебовича является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для биотехнологии, касающейся создания высокоэффективных ферментных комплексов и, таким образом, отвечает требованиям п.8 Положения ВАК РФ о порядке присуждения ученой степени кандидата наук, а сам диссертант, Булахов Александр Глебович, заслуживает присвоения ему искомой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.04 Биохимия, 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Специалист по продукции
«Проточная цитофлуориметрия и иммунохимия»
ЗАО «Биохиммак Диагностика»
к.х.н.



А.А.Скомаровский