

Отзыв

на автореферат диссертации Савиновой Ольги Сергеевны **«Получение рекомбинантных минорных изоферментов лакказ базидиомицета *Trametes hirsuta* 072 в *Penicillium canescens* и их сравнительная характеристика»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. – Биохимия

Диссертационная работа Ольги Сергеевны Савиновой связана с одной из актуальных проблем биохимии, а именно, выяснить какими уникальными физико-химическими и каталитическими свойствами характеризуются минорные изоферменты лакказ, на примере базидиального гриба *T. hirsuta* 072, и на основе этих результатов оценить биотехнологический потенциал минорных изоферментов лакказ для обезвреживания отходов различных отраслей промышленности, содержащих токсичные соединения (на примере красителей). Согласно текущему мнению, для решения такой задачи необходимо научное обоснование, которое должно базироваться на результатах комплексного анализа, оцененного разными методами.

Замысел данной работы основан на выборе подходящей экспрессионной системы для гетерологичной экспрессии минорных изоферментов лакказ, выделении, очистки и сравнительном анализе физико-химических и каталитических свойств минорных рекомбинантных изоферментов лакказ, в том числе и сравнительной оценки их эффективности при деградации красителей конго красного и фенолового красного в составе лакказа-медиаторных систем.

Аналитическое рассмотрение диссертации позволяет заключить следующее: автором предпринята серия экспериментов, спланированных на высоком профессиональном уровне. Ольгой Сергеевной использован целый арсенал классических и современных высокоразрешающих методов, применяемых в мировой практике биохимических и молекулярных исследований. Впечатляет и список полученных и исследованных белков, выбранных автором как объекты для исследований – это все представители мультигенного семейства лакказ, которое представлено семью генами (*lacA-lacG*) у базидиального гриба *Trametes hirsuta* 072 - эффективного деструктора лигнина.

На основе обширных экспериментальных данных диссертантом убедительно доказано, что минорные изоферменты γ LacD и γ LacF проявляют большую эффективность при деградации красителей конго красного и фенолового

красного в составе лакказа-медиаторных систем (ЛМС), чем мажорный LacA, а изофермент gLacD имеет наиболее высокую термостабильность среди изученных представителей данного семейства. И это является научным обоснованием того, что именно эти изоферменты потенциально перспективны для применения в биотехнологии.

В качестве замечаний и вопросов:

1. Желательно было бы привести общую информацию об использованном промоторе гена *bgaS*, как это сделано для промотора *gpdA* (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы) *A. nidulans*.
2. Соискатель использовал сигнальные пептиды генов лакказ, однако не указано какую роль они могут играть в эффективной экспрессии белковых продуктов целевых генов.
3. С чем связаны различия в активности штаммов (таблица 2), которые получены при трансформации одними и теми же плазмидами (например, *P.canescens* Cc1(25)5, *P.canescens* Cc1(25)24 и *P.canescens* Cc1(25)25)? Каковы причины, по мнению соискателя, таких различий - копияность плазмид, эффективность транскрипции или другие причины?
4. Поскольку диссертантом использован один и тот же промотор (промотор гена *bgaS*) для контроля экспрессии целевых генов лакказ, возникает вопрос с чем может быть связан разный уровень их транскрипции (рис. 6)?

Вышеперечисленные замечания и вопросы не снижают общей высокой оценки работы, исследование выполнено с использованием широкого спектра современных методов, а научная новизна и практическая значимость работы не вызывают сомнений.

В целом диссертационная работа Ольги Сергеевны Савиновой весьма обширна по представленным результатам, которые оформлены в таблицы и рисунки, более того достоверность результатов не вызывает сомнений, поскольку они подтверждаются данными статистической обработки. Основные положения и результаты исследований по диссертации опубликованы в 13 работах, в том числе 4 статьях в высокорейтинговых журналах. Результаты исследований диссертанта успешно апробированы на многочисленных научных форумах. В целом работа исполнена на высоком научном уровне: проведен большой объем исследований, получены результаты и сделаны логичные выводы,

соответствующие представленным результатам. Следует отметить четкость сформулированных задач, правильность выбранной стратегии исследования и квалификацию исполнения, что характеризует исследователя как высококвалифицированного исследователя.

Диссертационная работа «Получение рекомбинантных минорных изоферментов лакказ базидиомицета *Trametes hirsuta* 072 в *Penicillium canescens* и их сравнительная характеристика» по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, и представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, а ее автор, Савинова Ольга Сергеевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04. – Биохимия.

Руководитель группы функциональной геномики,
Ведущий научный сотрудник
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института физиологии растений им К.А. Тимирязева
Российской академии наук,
доктор биологических наук, доцент

 Ирина Васильевна Голденкова-Павлова

Адрес:
127276, Москва, Россия,
улица Ботаническая, дом 35,
тел. +7 (499) 678-53-56;
E-mail: irengold58@gmail.com

Подпись И.В. Голденковой-Павловой заверяю.
Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института физиологии растений им К.А. Тимирязева
Российской академии наук


Наталья Витальевна Щербакова

«29» апреля 2019 года

