

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу 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)

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Савиновой Ольги Сергеевны посвящена углублению знаний о каталитических и физико-химических свойствах лакказ – ферментов из базидиального гриба *Trametes hirsuta* 072, эффективного деструктора лигнина. Лакказы являются одним из ключевых компонентов уникального комплекса внеклеточных ферментов этих грибов, ответственного за биodeградацию лигноцеллюлозы. Сегодня большое количество лигноцеллюлозо-содержащих промышленных и сельскохозяйственных отходов может служить хорошим источником сырья для получения биотоплива и для химического синтеза, при условии деструкции высокополимерной лигноцеллюлозы на олигомерные звенья. Изучение ферментов, проводящих такую деструкцию, в силу недостаточной разработанности биопрепаратов для деструкции, является актуальной задачей. Другой актуальной проблемой является большое содержание в продуктах деструкции целлюлозы токсичных (в т.ч. гетероциклических) органических соединений. В силу того, что лакказы способны к детоксификации таких соединений путём окисления, изучение их свойств также актуально. Это их свойство потенциально полезно также и для обезвреживания отходов различных отраслей промышленности, содержащих токсичные органические соединения. В силу того, что грибы содержат огромное разнообразие лакказ (в т.ч. кодируемых мультигенными семействами), детальное изучение новых представителей этой группы перспективно для выявления лакказ с разными субстратными специфичностями. Это, в свою очередь, может найти применение в отраслях промышленности, где требуются более тонкие и точные процессы – в пищевой и фармацевтической. С этими целями изучены свойства трёх минорных лакказ из *Trametes hirsuta* 072, ранее никак не охарактеризованных.

Содержание диссертации

Диссертационная работа Савиновой О.С. построена по традиционному плану, изложена на 156 страницах, состоит из Введения, Обзора литературы, глав, описывающих материалы и методы исследований, результаты и их обсуждение, Заключения, списка

цитированной литературы, включающего 287 источников, и приложения. В целом диссертация носит завершённый характер, хорошо проиллюстрирована (содержит 27 рисунков).

Во Введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цели и задачи исследования, подчёркнута научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, приведены положения, выносимые на защиту, даны сведения о личном вкладе диссертанта, степени достоверности результатов, апробации и публикации работы, связи работы с государственными программами.

В главе Обзор литературы автор подробно рассматривает строение активного центра и механизм действия лакказ, их трехмерные структуры, основные характеристики лакказ, такие, как окислительно-восстановительный потенциал, термо- и pH- зависимость активности лакказ, каталитические константы, характер гликозилирования, субстратную специфичность, разнообразие лакказ в природе и их физиологические роли, и, более детально, лакказы базидиомицетов рода *Trametes*. Также автор проводит сравнение бактериальных, дрожжевых, и грибных систем экспрессии, и делает обоснованные заключения о преимуществах и недостатках каждого типа систем. Практическое применение лакказ также освещено на хорошем уровне. Обзор литературы свидетельствует о том, что автор хорошо ориентируется в проблеме, проанализировал большое количество современной научно-технической информации, способен на критический анализ и обобщения.

В главе Материалы и методы содержится детальное описание всех методик, использованных в диссертации, что позволяет оценить достоверность результатов, и воспроизвести эти методики другим исследователям.

В качестве замечаний к работе можно отметить следующее.

1. В диссертации отсутствует раздел Выводы. Хотя фактически выводы полностью приведены в разделе Заключение, принято оформлять их в виде отдельного раздела.

2. В положениях, выносимых на защиту, (и, соответственно, в выводах) указано, что «Экспрессионная система на основе ... *P. canescens* является наиболее эффективной для гетерологичной экспрессии минорных изоферментов лакказ базидиомицета *T. hirsuta* 072.». Это утверждение не является корректным с научной точки зрения, более правильным было бы утверждение «Экспрессионная система на основе ... *P. canescens* является наиболее эффективной **из апробированных авторами** для гетерологичной экспрессии минорных изоферментов лакказ базидиомицета *T. hirsuta* 072.».

3. В выводе 2 отсутствует формулировка, приведённая во втором положении, выносимом на защиту, о сравнении свойств минорных лакказ с таковыми мажорного изофермента LacA.

Приведённые замечания в целом не снижают уровня и значимости диссертационной работы Савиновой О.С.

Достоверность, новизна и ценность полученных в диссертационной работе результатов для науки и практики

Достоверность результатов работы Савиновой О.С. основана на применении большого спектра современных физико-химических и генно-инженерных методов, и полном и тщательном анализе полученных данных. Результаты работы представляют теоретическую значимость, т.к. минорные лакказы грибов мало охарактеризованы, и информация о них может служить базисом для дальнейших исследований роли различных изогенных лакказ в жизнедеятельности грибов. С практической точки зрения, автором получены интересные сведения об уровне окислительно-восстановительного потенциала разных лакказ (что характеризует их способность к интенсивной переработке субстратов), и о специфичности разных лакказ, что может найти применение в целевой биотрансформации различных субстратов.

Опубликование результатов диссертации

Результаты и выводы диссертационной работы Савиновой О.С. опубликованы на очень хорошем уровне, и представлены в печатных работах – четырёх статьях, опубликованных в рецензируемых журналах – журнале *Frontiers in Microbiology*, входящем в первый квартиль по классификации ISI, а также журналах *Biochimie* (IF больше 3), *Biotechnology And Applied Biochemistry*, и *Applied Biochemistry and Microbiology*. Материалы диссертации неоднократно представлялись на международных и отечественных конференциях. В качестве незначительного замечания к списку опубликованных статей можно заметить, что не указано, что публикация в журнале *Applied Biochemistry and Microbiology* может являться также и публикацией в отечественных журналах Прикладная биохимия и микробиология или Биотехнология – в зависимости от того, куда авторы подавали исходный русский текст статьи. Однако, это не снижает уровня диссертационной работы Савиновой О.С.

Содержание автореферата

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Заключение

Диссертационная работа Ольги Сергеевны Савиновой «ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ МИНОРНЫХ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЛАККАЗ БАЗИДИОМИЦЕТА *TRAMETES HIRSUTA* 072 В *PENICILLIUM CANESCENS* И ИХ СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА» содержит достоверные и обоснованные результаты, отличающиеся научной новизной, актуальностью, и научно-практической значимостью. Работа отвечает всем требованиям п.9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённых Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 (Биохимия).

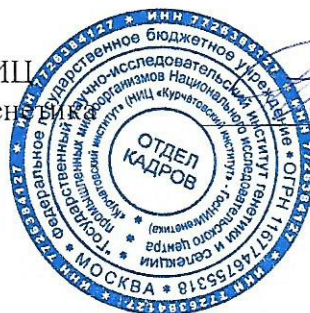
Старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук (03.02.07 - Генетика)
НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИ генетика
117545, г. Москва, 1-й Дорожный пр., д. 1,
Тел.: +7 (495) 315-01-83, e-mail: lavrov.ko@gmail.com



Лавров К.В.

Подпись с.н.с. Лаврова К.В. заверяю

Заведующий отделом кадров ФГБУ НИЦ
«Курчатовский институт» - ГосНИИ ген




Виденеева Р.В.

«13» мая 2019 г.