

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 посвящена очень важному и актуальному направлению – производству ферментных препаратов. В настоящее время энзимологию охватил бум, постепенно стирающий границы между традиционными биологическими и химическими дисциплинами. Ферментативные реакции все шире используются в химическом синтезе лекарств, полимеров, пищевых добавок, и их возможности постоянно расширяются. Особенный интерес вызывают ферменты с широкой субстратной специфичностью, имеющие большой технологический потенциал. К ним относятся ферменты лакказы, характерные для грибов, специализирующихся на деструкции лигнина. Безусловно, интенсивное внедрение в технологию ферментов невозможно без развития генной инженерии, поскольку их природные источники не всегда оказываются эффективными промышленными продуцентами. К сожалению, мы сегодня являемся свидетелями споров о негативном влиянии трансгенеза на окружающую среду и здоровье людей. Эти споры носят чисто экономический характер и тормозят развитие биотехнологии. Поэтому, отрадно видеть работы в данном перспективном направлении, такие, как исследование Ольги Сергеевны.

Живые организмы, как правило, продуцируют не один фермент с заданной активностью, а несколько близких изоферментов. У них различаются свойства – субстратная специфичность, скорость реакции, температурный оптимум и т.д. Минорные изоферменты являются индуцибельными, то есть выделяются не постоянно, а только в ответ на определенные стимулы. При этом исследования затрагивают, в первую очередь, мажорный фермент, являющийся сравнительно легкодоступным и удобным объектом. Научная новизна работы Ольги Сергеевны заключается в том, что она посвящена минорным изоферментам лакказы гриба трутовика жёстковолосистого (*Trametes hirsuta* 072), эффективного деструктора лигнина, вызывающего белую гниль древесины лиственных пород.

Поскольку выращивать плесневые грибы намного быстрее, дешевле и эффективнее, чем трутовики, первым делом диссертант взялась за создание продуцента лакказ. Таким продуцентом стал гриб *Penicillium canescens*: другой потенциальный продуцент на основе штамма аспергилла дал заметно более низкие показатели. Для внедрения генов лакказ в плесневый гриб была проведена серьезная работа по выбору системы экспрессии, получению и отбору трансформантов. В результате были отобраны штаммы *P. canescens*, являющиеся наиболее активными продуцентами минорных лакказ *T. hirsuta*.

Но создание продуцентов – еще полдела. Ольга Сергеевна исследовала их культивирование и нашла стадии жизненного цикла, в которых наблюдается максимум экспрессии интересующих генов.

Безусловно, создание штаммов продуцентов само по себе является темой диссертации. Но Ольга Сергеевна не стала ставить точку и продолжила исследование самих минорных лакказ. Для этого она провела выделение белковой фракции классическими методами (высаливание) и ее разделение на индивидуальные белки при помощи хроматографии на различных сорбентах. В конечном итоге, диссертантом были разработаны индивидуальные приемы очистки для различных изоферментов. А получив изоферменты в чистом виде, Ольга

