

ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Агафонова Михаила Олеговича «Метилотрофные дрожжи *Ogataea polymorpha* и *O. parapolyomorpha*: молекулярно-генетическая модель для изучения секреции белков и гомеостаза ионов кальция», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Диссертационная работа Агафонова Михаила Олеговича представляет собой исследование, посвященное изучению механизмов, влияющих на секрецию рекомбинантных белков клетками дрожжей. Актуальность работы связана необходимостью конструирования промышленных штаммов-продуцентов рекомбинантных белков.

Цель работы заключается в выявление факторов, влияющих на секрецию чужеродных плохо секретируемых белков клетками *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*, а также определение физиологической роли этих факторов.

В диссертационной работе решены следующие задачи:

1. Разработана модель для изучения факторов, влияющих на эффективность секреции рекомбинантных белков дрожжами *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*.
2. Найдены гены *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*, влияющие на эффективность секреции рекомбинантных белков, гликозилирование белков и гомеостаз кальция.
3. Выявлены физиологические последствия нарушения гомеостаза кальция в секреторных органеллах *O. polymorpha*.
4. Определены физиологические последствия нарушений гликозилирования в секреторном пути *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*.

Автором впервые установлено, что активатор плазминогена урокиназного типа (*urokinase-type plasminogen activator*, uPA) человека с низкой эффективностью принимает правильную конформацию в секреторном пути дрожжей рода *Ogataea* и при высоких уровнях продукции накапливается в клетках в форме высокомолекулярных агрегатов.

Впервые идентифицированы и охарактеризованы мутации *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*, способные увеличивать эффективность секреции рекомбинантных белков за счет улучшения условий для их укладки. Показано, что нарушения гликозилирования белков в секреторном пути дрожжей рода *Ogataea* могут влиять на условия укладки белков в эндоплазматическом ретикулуме.

Впервые продемонстрировано, что с использованием модельной системы, основанной на анализе секреции uPA клетками дрожжей, можно выявлять мутации,

нарушающие транспорт белков в вакуоль. Показано, что такие нарушения усиливают протеолитический процессинг секретируемых белков.

Впервые показано участие компонента окаймляющего комплекса COP1 в поддержании гомеостаза Ca^{2+} в секреторных органеллах за счет его доставки из независимого от Ca^{2+}/Mn^{2+} -АТФазы аппарата Гольджи источника.

Актуальность, достоверность, научная новизна и практическая значимость работы Агафонова М.О. не вызывают сомнений. Результаты диссертации представляют собой законченное научное исследование.

Знакомство с авторефератом позволяет заключить, что в работе применен комплексный научный подход, позволяющий автору разработать модельную систему для направленной генетической модификации штаммов дрожжей с целью улучшения продукции рекомбинантных секретируемых белков. Несомненным достоинством рассматриваемой диссертационной работы является изучение механизмов, влияющих на секрецию рекомбинантных белков, получение и характеристика мутаций, увеличивающих секрецию белка за счет улучшения его укладки в эндоплазматическом ретикулуме. Полученные результаты анализа проявлений этих мутаций являются важными, поскольку позволили оценить их потенциал для получения рекомбинантных белков.

Полученные автором результаты вполне соответствуют уровню докторской диссертации по рассматриваемой специальности.

Автореферат диссертации составлен с соблюдением установленных требований, дает полное представление о работе.

Научная новизна проведенных исследований подтверждена публикациями в отечественных и зарубежных изданиях, по материалам диссертационной работы опубликована 21 статья в международных рецензируемых изданиях, 3 статьи в российских рецензируемых журналах и глава в книге.

Полученные результаты прошли неоднократную апробацию на российских и международных конференциях.

В целом, на основании автореферата, можно сделать вывод о том, что диссертационная работа Агафонова Михаила Олеговича «Метилотрофные дрожжи *Ogataea polymorpha* и *O. parapolymorpha*: молекулярно-генетическая модель для изучения секреции белков и гомеостаза ионов кальция» по актуальности, новизне, научной ценности и практической значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, отвечает требованиям, предъявляемым к докторским

диссертациям, а ее автор, Агафонов Михаил Олегович, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

21 сентября 2021 г.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории биохимии
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биохимии и
физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук (ИБФРМ РАН),
доктор биологических наук, профессор
просп. Энтузиастов, 13,
г. Саратов, 410049,
тел.: (8452)970444
E.mail: guliy_olga@mail.ru

020

О.И. Гулий

Подпись Гулий О.И. заверяю:
Ученый секретарь ИБФРМ РАН
к.б.н.

21 сентября 2021 года



О.Г. Селиванова