

О Т З Ы В

на автореферат диссертации Агафонова Михаила Олеговича «Метилотрофные дрожжи *Ogataea polymorpha* и *O. parapolyomorpha*: молекулярно-генетическая модель для изучения секреции белков и гомеостаза ионов кальция»,

представленной на соискание степени доктора биологических наук
по специальности 1.5.4. - Биохимия

Диссертация М.О. Агафонова посвящена актуальной проблеме современной биохимии и биотехнологии: проблеме секреции чужеродных рекомбинантных белков клетками метилотрофных дрожжей. Эти дрожжи являются эффективными продуцентами ряда рекомбинантных белков, ценных для медицины и промышленности, поскольку у них имеются сильные промоторы, позволяющие индуцировать их биосинтез. Однако, во многих случаях секреция таких рекомбинантных белков затруднена вследствие эволюционных различий в функционировании секреторных путей. Задачи данной работы, заключающиеся в исследовании факторов, регулирующих секрецию белков у метилотрофных дрожжей, выявлении генов, влияющих на эффективность секреции, а также роли гомеостаза ионов кальция в секреторных процессах, демонстрируют новый и комплексный подход к решению данной проблемы.

На примере секреции активатора плазминогена урокиназного типа человека впервые установлено, что у метилотрофных дрожжей важной причиной затруднения в секреции рекомбинантных белков является накопление в клетках высокомолекулярных агрегатов этого белка, не имеющих правильной конформации, выявлены мутации, которые приводят к увеличению эффективности укладки целевого белка. В ходе работы получены новые приоритетные данные о поддержании гомеостаза ионов кальция в клетках дрожжей, что вносит вклад в дальнейшее понимание компартментации этого иона в клетке и путях перемещения его между органеллами, а также позволяет анализировать роль ионов кальция в процессах везикулярного транспорта.

Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, для решения поставленных задач проведен большой объем работ по конструированию, отбору и анализу особенностей физиологии различных мутантных штаммов. Эти штаммы могут и в дальнейшем послужить моделями для исследования функционирования секреторных путей и транспортных систем у метилотрофных дрожжей. Работа несет в себе значительные практические перспективы: она демонстрирует, что направленный мутагенез для модификации путей гликозилирования и

систем транспорта кальция в аппарате Гольджи позволяет увеличить уровень секреции целевых рекомбинантных белков. Возможно, что такие мутантные штаммы могут оказаться эффективными и для повышения уровня секреции других белков, необходимых в практике. В целом, результаты диссертационной работы дают начало новому направлению по конструированию штаммов метилотрофных дрожжей, способных к эффективной секреции рекомбинантных белков человека, необходимых для исследовательской деятельности и медицины. Полученные данные представлены в достойном числе работ, опубликованных в высокорейтинговых научных журналах.

Диссертационная работа Агафонова Михаила Олеговича «Метилотрофные дрожжи *Ogataea polymorpha* и *O. parapolyomorpha*: молекулярно-генетическая модель для изучения секреции белков и гомеостаза ионов кальция» соответствует Положению «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности «1.5.4. -Биохимия».

Кулаковская Татьяна Валентиновна
ведущий научный сотрудник, д.б.н.,

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
142290, Россия, Московская обл., г. Пушкино, пр. Науки 5.

Тел.: +7 (495)956-3370

Эл.почта: alla@ibpm.pushchino.ru



Кулаковская Т.В.
Кулаковская Т.В.

« 6 » 09 2021 г.