

## 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 ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Одной из проблем, с которой сталкиваются молекулярные генетики и биотехнологи при попытке экспрессировать рекомбинантные белки высших организмов в одноклеточных продуцентах, является сохранение нативной структуры таких белков и их функциональных свойств. В отношении дрожжей эта проблема в основном связана с секреторным аппаратом. Поэтому поиск способов модификации секреторного аппарата дрожжей для более эффективной секреции трудносекретируемых белков является актуальной задачей. Подобные исследования удобно производить, используя модельные организмы как модельные системы. Любая экспериментальная модельная система будет обладать преимуществами и недостатками в силу изменчивости живых организмов и тонкостей регуляции биохимических процессов, поэтому в арсенале ученых должны быть не одна, а несколько модельных систем. Биологических моделей всегда недостаточно, а, следовательно, создание подходящих модельных систем для изучения биологических процессов, в частности для исследования факторов, ограничивающих секрецию чужеродных белков, следует относить к наиболее важным направлениям биологических наук. Таким образом, актуальность темы диссертации Агафонова М.О., посвященная этой проблеме, не вызывает сомнения.

Диссертационная работа Агафонова М.О. представляет собой комплексное исследование и проведено с использованием модельной системы, основанной на секреции активатора плазминогена человека (uPA) у дрожжей *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*, которая разработана самим автором. Результаты работы открывают новые перспективы в исследовании факторов, влияющих на модификацию и фолдинг белков в секреторном пути, а также будут способствовать идентификации генов, которые контролируют транспорт белков в вакуоль у дрожжей *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*. Подходы для оптимизации продукции секретируемых белков в клетках дрожжей могут быть использованы при конструировании новых промышленных штаммов-продуцентов рекомбинантных белков.

Целью работы заявлено: «Выявление факторов, влияющих на секрецию чужеродных плохо секретируемых белков клетками *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*, а

также определение физиологической роли этих факторов», и эта цель, по моему мнению, достигнута. В работе Агафонов М.О. продемонстрировал влияние гомеостаза  $\text{Ca}^{2+}$  на регуляцию клеточного цикла у дрожжей рода *Ogataea*. Были получены данные, свидетельствующие о наличии неизвестного прежде пути доставки  $\text{Ca}^{2+}$  в ранние компартменты секреторного аппарата. Показано, что таким источником может быть вакуоль, и что в транспорте  $\text{Ca}^{2+}$  принимают участие компоненты окаймляющего комплекса COP1. Автором впервые изолированы и охарактеризованы мутации *O. polymorpha* и *O. parapolyomorpha*, увеличивающие эффективность секреции рекомбинантных белков и определены гены, которые они нарушают. Таким образом, диссертация Агафопова М.О. является несомненно важным этапом в понимании биохимических механизмов, контролирующих фолдинг белков в эндоплазматическом ретикулуме дрожжей рода *Ogataea*.

Агафонов М.О. посвятил большую часть своей научной деятельности данной проблематике и добился убедительных результатов. Сделанные выводы соответствуют поставленным задачам и полученным результатам.

Работа Агафопова М.О. выполнена на высоком научном уровне с использованием современных биохимических, молекулярно-биологических и микробиологических методов исследования. Результаты работы опубликованы в рецензируемых отечественных и международных биологических изданиях и докладывались на международных и отечественных конференциях. По теме диссертации опубликованы 24 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, и одна глава в книге. Результаты демонстрируют большой объём выполненных исследований. Представленные автором данные уникальны. По актуальности, совокупности результатов и разработанных положений представленную работу Агафопова М.О. можно квалифицировать как новое крупное достижение в современной биохимии и генетике дрожжей.

Принципиальных замечаний к автореферату не имею. Отмечу компактное и при этом обстоятельное описание результатов и их обсуждения. Однако, мне не хватило наглядной схемы, изображающей предложенную автором модель для изучения секреции белков и гомеостаза кальция. На мой взгляд автореферат выиграл, если бы в нем присутствовал рисунок, отражающий схему биохимического пути, изучаемого автором, и суммирующий влияние на него внесенных автором мутаций.

Диссертационная работа Агафопова Михаила Олеговича «Метилотрофные дрожжи *Ogataea polymorpha* и *O. parapolyomorpha*: молекулярно-генетическая модель для изучения секреции белков и гомеостаза ионов кальция» является законченным научным



исследованием, представляет большой научный и практический интерес, соответствует критериям п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.4. - Биохимия.

Заведующая лабораторией  
молекулярно-генетических процессов развития  
ИБР РАН  
доктор биологических наук,  
Симонова Ольга Борисовна



/Симонова О.Б./

«Подпись Симоновой О.Б. удостоверяю»

Ученый секретарь ИБР РАН,  
кандидат биологических наук, доцент  
Хабарова Марина Юрьевна



/Хабарова М.Ю./

27 сентября 2021 г.

Сведения о составителе отзыва:

Симонова Ольга Борисовна, доктор биологических наук по специальности 1.5.7. – “генетика”, заведующая Лабораторией молекулярно-генетических процессов развития Института биологии развития им. Н.К. Кольцова (ИБР РАН).

Адрес: 119334, г. Москва, ул. Вавилова 26

Телефон: 8(499)135-20-97

Электронная почта: osimonova@hotmail.com