

УТВЕРЖДАЮ:

Зам. директора
Института биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина
- обособленного подразделения
ФГБУН «Федеральный исследовательский
центр «Пущинский научный центр
биологических исследований Российской
академии наук»
кандидат биологических наук



А.В. Лисов

«10» июня 2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу
Заулиной Ксении Сергеевны
«Гипертермофильные археи как источник новых термостабильных и термоактивных
гликозидаз»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.11. – Микробиология

Диссертация Ксении Сергеевны Заулиной посвящена исследованию новых термостабильных и термоактивных гликозидаз из органотрофных гипертермофильных архей, выделенных из различных термальных источников. Адаптация микроорганизмов к экстремальным условиям обитания может реализовываться на различных иерархических уровнях, но особый интерес представляют адаптации на молекулярном и биохимическом уровнях, поскольку делает экстремофилы перспективным источником белков и ферментов с уникальными свойствами. **Актуальность** исследования К.С. Заулиной обусловлена большим интересом научного сообщества к такому малоизученному классу микроорганизмов как гипертермофильные археи. Около половины генов в секвенированных на данный момент геномах архей кодирует белки с пока еще неопределенной функцией. Все это делает термофильных и гипертермофильных архей неисчерпаемым источником новых высокостабильных ферментов, что, в свою очередь, имеет потенциально широкие возможности применения в различных сферах промышленности и биотехнологии. Перечисленное выше определяет **научную новизну** представленной работы.

Диссертационная работа К.С. Заулиной изложена на 166 страницах машинописного текста. Работа очень хорошо иллюстрирована, включает в себя 57 рисунков и 26 таблиц.

Диссертация состоит из введения, семи глав, заключения, выводов, списка сокращения и списка литературы, который включает 266 наименований.

В разделе «Введение» автор убедительно обосновывает актуальность изучения гипертермофильных архей в качестве источника термостабильных ферментов, излагает цель и задачи исследования, характеризует представленную работу с точки зрения научной новизны и теоретической значимости, сообщает о месте проведения исследований и отражает свой личный вклад.

Поставленная цель заключалась в выделении и изучении гипертермофильных архей, растущих на полисахаридах, а также характеристике их новых гликозидаз. Достижение цели осуществлялась путем решения конкретных задач, которые полностью соответствовали теме диссертационной работы.

Главы 1-3 представляют собой обзор литературы, в котором автор описывает известные к настоящему времени сведения о группе гипертермофильных архей с фокусом на органотрофных культивируемых представителей. Автором проанализированы данные о центральном метаболизме углеводов у этих архей и ферментах, участвующих в осуществлении гликолиза. Обзор написан хорошим литературным языком и дает ясное представление о предмете исследований.

В главе 4 (Материалы и методы исследования) подробно описывается весь арсенал современных молекулярных, аналитических и микробиологических методов, который применяла К.С. Заюлина для выполнения такой большой работы. Несмотря на то, что в описании биохимических методов есть некоторые недочеты, примененные автором методические подходы полностью отвечают поставленным задачам, а их чрезвычайно широкий спектр делает результаты надежными и воспроизводимыми.

Результаты изложены в трех главах (Главы 5–7). Автор выделила и охарактеризовала 10 штаммов гипертермофильных представителей филума *Crenarchaeota*, утилизирующих полисахариды. Подробно исследованы представители родов *Thermococcus*, *Pyrobaculum* и *Thermofilum*, у которых обнаружены внеклеточные целлюлазы/ксилаказы. Использование сравнительно-геномного и протеомного подходов позволило К.С. Заюлиной обнаружить в изученных организмах новые гликозидазы. Интересной находкой стало обнаружение в геноме штамма 2319x1 *Thermococcus* sp. гена, кодирующего мультидоменную гликозидазу с уникальной доменной организацией. Полученные характеристики рекомбинантной мультидоменной гликозидазы, ее фрагментов и каталитических доменов показали, что один из белков является самой термостабильной из известных целлюлаз. В результате проведения масштабных исследований автору диссертации удалось представить надежные доказательства того, что гипертермофильные археи имеют огромный

биотехнологический потенциал в части продукции термостабильных и термоактивных ферментов. Уникальный опыт и практические навыки, полученные в ходе выполнения настоящей работы, могут быть использованы в планировании и осуществлении будущих микробиологических исследований

Работа аккуратно оформлена и практически не содержит ошибок, но имеются некоторые замечания и вопросы:

Стр. 58 не приведены последовательности праймеров для амплификации гена мультидоменной целлюлазы/ксиланазы из *Thermococcus* sp. 2319x1 и ее компонентов;

Стр. 59 вместо «Клонирование рекомбинантных ферментов» нужно присать «Клонирование генов рекомбинантных ферментов»;

Стр 63 необходимо использовать либо супернатант, либо культуральная жидкость;

Стр. 68. Не представлено описание методов по определению устойчивости гликозидаз к различным детергентам, солям и прочее;

Стр. 82. в Методах не описано, каким образом готовили и вносили клеточный фильтрат архей, пояснение в подписи к рисунку малоинформативна;

Стр 86, Рис. 21. не указаны значения бутстрепа

Стр 98-99 активность гликозидаз рассчитана в мкг/мл час. Возможно, если рассчитать на мг белка, она была бы одинакова в клетках, выросших с разными акцепторами;

Стр 106 Какие программы использовались для предсказания локализации белка?

Стр 113 не указано, как строились филогенетические деревья;

Стр. 122 и везде – неприемлемо использовать слово «заклонированы» - клонированы.

Стр 136, Таблица 26 – не указаны единицы измерения.

Однако замечания, безусловно, носят рекомендательный характер и никоим образом не умаляют достоинств работы. Все задачи, поставленные в работе, успешно выполнены. Выводы диссертационной работы вытекают из ее задач, корректны и полностью обоснованы полученным экспериментальным материалом. Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертации. Работа была апробирована на престижных российских конференциях в виде устных и постерных докладов.

Таким образом, на основе анализа диссертации можно заключить, что диссертационная работа К.С. Заюлиной является законченной научной работой, в которой решаются задачи, имеющие значение для развития представлений о функциональном разнообразии и биотехнологическом потенциале гипертермофильных архей.

Высокий экспериментальный уровень диссертационной работы, разнообразие используемых подходов, уникальность и новизна полученных результатов, позволяют с полным основанием заключить, что диссертация, посвященная исследованию

термостабильных гликозидаз из гипертермофильных архей, соответствует критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (№ 842 от 24.09.2013 г.), а ее автор – Заюлина Ксения Сергеевна, без сомнений, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология

Отзыв обсужден, одобрен и утвержден на семинаре отдела «Всероссийская коллекция микроорганизмов» и лаборатории анаэробных микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» от 9 июня 2022 г. протокол № 5.

Отзыв составила
Доктор биологических наук
ведущий научный сотрудник
Лаборатории анаэробных микроорганизмов



Щербакова Виктория Артуровна

Подпись Щербаковой Виктории Артуровны заверяю



Решетилова Т.А., д.б.н.

Ученый секретарь ИБФМ РАН

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук».

Почтовый адрес: Российская Федерация, 142290, Московская область, г. Пушкино, проспект Науки, 3.

Эл. почта: adm@ibpm.ru, <http://www.ibpm.ru>; тел./факс: (4967) 73-39-62