



УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального исследовательского центра
«Пущинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН)



П.Я. Грабарник

2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН)

на диссертацию Моисеенко Константина Валерьевича «Лакказы и
лигнинолитические пероксидазы дереворазрушающего гриба *Trametes hirsuta*:
эволюция, транскрипция, секреция и участие в процессах биодеструкции»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.4. Биохимия

1. Актуальность темы выполненной работы.

Диссертация Моисеенко К.В. является исследовательской работой, посвященной решению важной научной задачи – исследованию биохимических процессов разложения лигнина, одного из природных полимеров.

Лигнин является компонентом растительной стенки и представляет собой неупорядоченный полимер ароматических соединений. В природе лигнин разлагают грибы, вызывающие белую гниль древесины. Изучение ферментных систем таких грибов позволяет глубже проникнуть в механизмы вовлечения лигнина в биологический цикл углерода. Так же продукты разложения лигнина являются одним из главных отходов целлюлозно-бумажной промышленности, загрязняющих окружающую среду. Изучение лигнинолитических ферментов будет способствовать разработке новых биологических технологий утилизации лигнина. Таким образом, результаты, полученные автором, являются актуальными и своевременными и вносят существенный вклад в понимание биохимических механизмов разложения лигнина.

2. Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов.

Исследования, проведённые автором, выполнены на высоком методическом уровне. Новизна исследования несомненна и определяется следующими результатами:

Впервые детально изучен состав мультигенных семейств лакказ, марганец пероксидаз, лигнин пероксидаз и версатил пероксидаз гриба *Trametes hirsuta*. Впервые детально проанализирована эволюция семейств генов лакказ и пероксидаз базидиальных грибов и предложена классификация изоферментов лакказ и пероксидаз на основе образуемых ими ортологических групп. Впервые проведён анализ продукции ферментов деградации лигнина, проанализированы продукты деградации лигнина и проведено сопоставление состава ферментного комплекса составу продуктов деградации лигнина.

Таким образом, полученные результаты оригинальны, сделанные на их основе выводы адекватны поставленным задачам.

3. Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций.

Для достижения целей исследования автором были поставлены адекватные задачи, которые удалось полностью решить с использованием широкого набора современных микробиологических, биохимических, биоинформационических и молекулярно-генетических методов.

Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций обеспечивается большим числом проведенных экспериментов, а также использованием методов, адекватных поставленным задачам. Для обработки полученных результатов автор использовал методы статистической обработки результатов исследований. Выводы, сделанные Моисеенко К.В., содержательны и полностью соответствуют поставленным задачам.

4. Апробация работы и публикации.

Результаты работы были доложены на российских и международных научных конференциях. По материалам диссертации опубликовано 9 статей в международных рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК, и 6 тезисов докладов научных конференций. Тема статей и тезисов докладов соответствует содержанию представленной диссертации.

5. Значимость полученных результатов для науки и производства.

Значимость диссертационного исследования Моисеенко К.В. для науки и практики определяется тем, что автором впервые проведено фундаментальное исследование эволюции комплекса оксидоредуктаз грибов белой гнили, а также его продукции грибом. Полученные результаты помогут лучше понять биохимию процесса разложения лигнина под воздействием грибных оксидоредуктаз и вовлечённость в этот процесс отдельных ферментов.

Практическая значимость работы состоит в исследовании разложения грибом белой гнили отхода бумажной промышленности, крафт-лигнина, и ароматического красителя. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых технологий биологического разложения отходов бумажной и текстильной промышленности.

6. Соответствие содержания диссертации автореферату и указанной специальности.

Материалы, содержащиеся в автореферате изложены ясным языком и содержат все основные положения диссертационной работы. После ознакомления с авторефератом можно получить полное представление о качестве диссертации. Содержание диссертации содержит данные о химических реакциях, катализируемых грибами. Данные получены в том числе помостью биохимических методов, и полностью соответствует специальности 1.5.4. Биохимия.

7. Оценка содержания диссертации, замечания.

Структура диссертационной работы стандартна и состоит из Введения, Обзора и анализа литературных источников, Экспериментальной части, включающей описание Материалов и методов, Результатов и обсуждения, Заключения, Выводов, Списка использованной литературы (172 источника).

Обзор литературы в полной мере освещает вопросы, касающиеся темы исследования. Изложены современные представления о биохимических механизмах разложения древесины грибами бурой и белой гнили, ферментах, участвующих в этом процессе. Процитированы основные работы по эволюции лакказ и пероксидаз грибов, биохимических механизмах разложения лигнина и ксенобиотиков грибами белой гнили.

В главе Материалы и методы исследования все применяемые методики описаны подробно, что позволяет воспроизвести их. Применяемые методы адекватны поставленным задачам исследования. Работа проведена на современном методическом

уровне с использованием различных методов микробиологии, биохимии, биоинформатики и молекулярной генетики.

Приведенные в работе научные положения и выводы аргументированы, основаны на общепринятых теоретических закономерностях и опираются на экспериментальные данные. В работе нет взаимно противоречивых выводов.

Однако, отмечая достоинства диссертационной работы и ее практическую значимость, следует указать на некоторые спорные положения и высказать **замечания**:

1. Можно ли говорить о конститутивной продукции лигнинолитических ферментов, в первую очередь лакказы, если в состав среды для культивирования гриба входит пептон? В составе пептона содержатся ароматические соединения, способные служить индукторами.

2. В ходе экспериментов отмечалось, что отбор проб «... осуществляли на 3-и, 5-е и 8-е сутки культивирования, соответствовавшие началу логарифмической, середине логарифмической и началу стационарной фаз роста гриба». Однако кривые роста не приведены. Каким образом определяли фазу роста гриба?

3. Хорошо изучено, что продукция лигнинолитических пероксидаз начинается при переходе культуры гриба к голоданию по некоторым источникам питания, в первую очередь по азоту. Контролировались ли содержание азота в ходе культивирования? Возможно ли, что практически отсутствующая продукция лигнин пероксидазы обусловлена отсутвием голодания культуры по азоту?

Вместе с тем, стоит отметить, что указанные замечания не снижают ценности диссертационной работы, не влияют на главные результаты работы и носят рекомендательный характер.

7. Заключение.

Диссертационная работа Моисеенко Константина Валерьевича «Лакказы и лигнинолитические пероксидазы дереворазрушающего гриба *Trametes hirsuta*: эволюция, транскрипция, секреция и участие в процессах биодеструкции», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием по актуальной теме, результаты которой имеют существенное значение для современной генетики и биотехнологии.

Все представленные результаты получены автором лично. Соискатель принимал непосредственное участие в выполнении работы, а также в подготовке основных публикаций по выполненной работе. При выполнении работы автор продемонстрировал

способность самостоятельно проводить исследования, анализировать и представлять данные.

По актуальности, научной новизне, фундаментальной и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Моисеенко Константина Валерьевича соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (с актуальными изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор, Моисеенко Константин Валерьевич, заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Отзыв на диссертацию рассмотрен, обсужден и утвержден на совместном семинаре Лаборатории микробной энзимологии и Лаборатории биохимии клеточной поверхности Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук – обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН (ИБФМ РАН), протокол № 5/23 от 15.09.2023.

Отзыв составил

к.б.н., в.н.с. Лаборатории микробной
энзимологии Института биохимии и
физиологии микроорганизмов им. Г.К.
Скрябина Российской академии наук –
обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ
РАН (ИБФМ РАН)

Лисов Александр Викторович
20.09.2023



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный
исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН)
142290, г. Пущино Московской обл., проспект Науки, д.3.
Тел./факс: (4967)73-26-36, e-mail: info@pncbi.ru, http://www.psn.ru