

Отзыв

на автореферат диссертации 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

Диссертационная работа Константина Валерьевича Моисеенко связана с одной из актуальных проблем биохимии, а именно, выяснить особенности эволюционного формирования и участия в процессах биодеструкции лакказ и лигнинолитических пероксидаз дереворазрушающего гриба *Trametes hirsuta*, вызывающего белую гниль древесины, и на основе этих результатов сформировать научную основу для направленного выбора определенных изоферментов лакказ и пероксидаз, обладающих желаемыми для целевых биотехнологических процессов свойствами. Следует подчеркнуть, что сапрофитные базидиомицеты – это неотъемлемая часть любой лесной экосистемы. Являясь фактически единственными организмами, способными эффективно деполимеризовать лигнин, содержание которого в древесине колеблется от 18 до 25 %, грибы белой гнили играют фундаментальную роль в балансе углерода, почвообразовании и регенерации леса. Кроме фундаментальной экологической роли, грибы белой гнили и их ферментные системы представляют бесспорный биотехнологический интерес, поскольку могут быть применены как для валоризации лигнина, остающегося в колоссальных количествах после варки целлюлозы, так и для детоксификации различных ксенобиотиков ароматической природы.

Согласно текущему мнению, основными окислительными экзоферментами грибов белой гнили считаются лакказы и лигнинолитические пероксидазы. В геномах грибов белой гнили гены лакказ и пероксидаз практически всегда представлены множеством неаллельных копий, образующих мультигенные семейства внутри генома. При этом до сих пор не решен вопрос о соотношении вкладов лакказ и пероксидаз в процессы детоксификации ксенобиотиков и разрушения лигнина, а также о том, какие изоферменты лакказ и пероксидаз играют наиболее существенную роль в данных процессах.

Для решения таких задач необходим комплексный подход, включающий всесторонний *in silico* анализ имеющихся данных, а также дополнительные экспериментальные результаты.

Аналитическое рассмотрение диссертации позволяет заключить следующее: автором предпринята серия экспериментов, спланированных на высоком профессиональном уровне. Константином Валерьевичем использован целый арсенал классических и современных высокоразрешающих методов, применяемых в мировой практике биохимических и молекулярных исследований. Впечатляет и список исследованных генов и белков, выбранных автором как объекты для исследований – это все представители мультигенного семейства лакказ, которые представлены семью генами лакказ (*lacA-lacG*), и лигнинолитических пероксидаз, включающие 18 полнофункциональных генов, из которых семь кодируют марганец пероксидазы (MnP1-MnP7), девять – лигнин пероксидазы (LiP1-LiP9), и два – версатил пероксидазы (VP1 и VP2) у базидиального гриба *T. hirsuta*.

На основе полного *in silico* анализа соискателем установлено, что все гены лакказ полипоровых грибов (в частности и *T. hirsuta*) произошли от одного предкового гена, в то же время, все гены пероксидаз этих грибов произошли от восьми предковых генов, часть которых была потеряна к концу раннего Мелового периода, а оставшаяся часть претерпела обширные параллельные дупликации в более поздние периоды времени. Помимо этого, Константином Валерьевичем на основе обширных экспериментальных данных убедительно доказано, что при деградации сульфонфталеинового красителя бромкрезолового зеленого основными секретруемыми экзоферментами являются лакказы (LacA), а при деградации крафт-лигнина – пероксидазы (MnP5, VP2, MnP7 и MnP1). Также показано, что при культивировании *T. hirsuta* в присутствии бромкрезолового зеленого существенно снижается транскрипция всех генов пероксидаз, а в присутствии крафт-лигнина – большинства генов лакказ. И это является научным обоснованием того, что именно эти ферменты потенциально перспективны для применения в биотехнологии, в частности для модификации молекулярного состава крафт-лигнина.

В качестве замечаний и вопросов:

1. О секреции лакказ и пероксидаз – известны ли лидерные последовательности в составе лакказ и пероксидаз, за счет которых и может происходить их секреция? И есть ли алгоритмы биоинформатического анализа, с помощью которых можно было бы сделать предсказание о наличии сигнальных пептидов у этих семейств белков?
2. Соискатель установил, что на контрольной GP среде основными секретруемыми белками являлись один изофермент лакказы – LacA, и два изофермента лигнинолитических пероксидаз – MnP5 и VP2. В качестве причин отсутствия в экзопротеоме других изоформ ферментов, гены которых транскрибировались, диссертантом высказано предположение о возможных дополнительных посттранскрипционных изменениях, а также о роли стабильности белка. Хотелось бы отметить, что кроме вышеперечисленного отсутствие лидерных сигналов или особенности 3D-структуры, которые не позволяют пройти белку через секреторный путь клетки, могут так же иметь значение. Хотелось бы знать мнение диссертанта по этому вопросу.


Вышеперечисленные вопросы не снижают общей высокой оценки работы, исследование выполнено с использованием широкого спектра современных методов, а научная новизна и практическая значимость работы не вызывают сомнений.

В целом диссертационная работа Константина Валерьевича Моисеенко весьма обширна по представленным результатам, которые оформлены в информативные рисунки, более того достоверность результатов не вызывает сомнений, поскольку они подтверждаются данными статистической обработки. Основные положения и результаты исследований по диссертации опубликованы в 9 научных изданиях, индексируемых международной реферативной базой Web of Science. Результаты исследований диссертанта успешно апробированы на многочисленных научных форумах. В целом работа исполнена на высоком научном уровне: проведен большой объем исследований, получены результаты и сделаны логичные выводы, соответствующие представленным результатам. Следует отметить четкость сформулированных задач, правильность выбранной

стратегии исследования и квалификацию исполнения, что характеризует исполнителя как высококвалифицированного исследователя.

Диссертационная работа Моисеенко Константина Валерьевича «**Лакказы и лигнинолитические пероксидазы дереворазрушающего гриба *Trametes hirsuta*: эволюция, транскрипция, секреция и участие в процессах биодеструкции**» является самостоятельным и завершенным исследованием и соответствует требованиям, изложенным в п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор без сомнений заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Руководитель лаборатории функциональной геномики,
Ведущий научный сотрудник
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института физиологии растений им К.А. Тимирязева
Российской академии наук,
доктор биологический наук, доцент

 Ирина Васильевна Голденкова-Павлова

Адрес:
127276, Москва, Россия,
улица Ботаническая, дом 35,
тел. +7 (499) 678-53-56;
E-mail: irengold58@gmail.com

Подпись И.В. Голденковой-Павловой заверяю.
Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института физиологии растений им К.А. Тимирязева
Российской академии наук


Наталья Витальевна Щербакова

«06» октября 2023 года