

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Панина Николая Владимировича  
на тему “Направленный мутагенез пенициллинацилазы из *Escherichia coli* для изменения  
каталитических свойств и стабильности”,  
представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук  
по специальностям 02.00.15 – кинетика и катализ; 03.01.06 - биотехнология

Диссертация Н.В. Панина представляет актуальный научный и практический интерес. С одной стороны, автором получен фермент пенициллинацилазы с улучшенными каталитическими и “потребительскими” свойствами – такими, как устойчивость в реакционных средах. С другой стороны, успешный результат белковой инженерии, проведенной на основании молекулярного моделирования и биоинформационного анализа, сам по себе является серьезным фундаментальным научным достижением.

Автором были получены 27 новых активных мутантных форм пенициллинацилазы из *Escherichia coli* и продемонстрировано, что направленный мутагенез позволяет эффективно изменять каталитические свойства фермента.

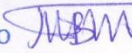
Важным результатом данной работы является установление существенной роли аминокислот bR297-bE266-bN262 и bE482-bD484 в поддержании третичной структуры фермента. При этом Н.В. Паниным было показано, что отталкивание однозарядных остатков bE482-bD484 определяет низкую стабильность пенициллинацилазы из *Escherichia coli* в щелочной среде. Автором была исследована мутантная форма белка с заменой bD484N, приводящей к 9-кратному увеличению щелочной стабильности фермента.

В работе были исследованы каталитические свойства полученных мутантных форм белка. Автором установлено, что замена bF71A приводит к 250-кратному увеличению стереоселективности в реакции ацилирования ароматических аминоспиртов. Кроме того, автором было показано, что введение мутации bF256R позволяет в 4 раза, а в комбинации с aR145G - более чем в 20 раз увеличить эффективность ацилирования в реакции синтеза бета-лактамовых антибиотиков. Автором была также экспериментально подтверждена возможность замены консервативного для пенициллинацилаз N-концевого серина на треонин с сохранением каталитической активности путем введения компенсирующей мутации.

Представленная работа, выполненная с использованием современных методов биохимии, геной инженерии, биокатализа, биоинформатики и молекулярного моделирования, содержит хорошо документированный и проанализированный экспериментальный материал. Выводы отражают результаты, обладающие несомненной новизной. Достоверность и обоснованность полученных результатов и выводов не вызывает сомнений.

По объему выполненных экспериментов, новизне и важности полученных результатов диссертационная работа Н. В. Панина полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Старший научный сотрудник  
Филиала Учреждения Российской академии наук  
Института биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,  
доктор биологических наук

Подпись заверяю   
начальник отдела кадров

Т. В. Шевчук

 С.И. Биляр