

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Доценко Анны Сергеевны «Белковая инженерия сайтов N-гликозилирования целлюлаз мицелиального гриба *Penicillium verruculosum*», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Растительная биомасса является перспективным возобновляемым источником сахаров, основного сырья для крупнотоннажного биотехнологического получения разнообразных промышленно-ценных органических соединений, включая биотопливо и разнообразные полимеры. Одной из стадий получения сахаров из целлюлозосодержащего растительного сырья является гидролиз полисахаридных компонентов, осуществляемый под действием ферментных препаратов (ФП), основным компонентом которых являются целлюлазы. Эффективность ферментативного гидролиза и себестоимость получаемых сахаров в значительной степени определяются свойствами используемых целлюлаз. В этой связи, изучение возможности повышения каталитической активности целлюлаз путем изменения их гликозилирования методами белковой инженерии, несомненно, является актуальной задачей.

Диссертационная работа Доценко А.С. посвящена изучению влияния N-гликозилирования на каталитические и биохимические свойства целлюлаз целлобиогидролазы I (ЦБГI), целлобиогидролазы II (ЦБГII) и эндоглюканазы II (ЭГII), секретируемых промышленным продуцентом целлюлолитических ферментов *Penicillium verruculosum*.

Научная новизна работы заключается в определении типа и структуры N-связанных гликанов ЦБГI, ЦБГII и ЭГII *P.verruculosum*, экспрессированных в грибах рода *Penicillium* (*P.verruculosum* и *P.canescens*), а также исследовании каталитических и биохимических свойств мутантных форм этих ферментов с измененными сайтами N-гликозилирования. Проведенное изучение свойств мутантных форм ЦБГI, ЦБГII и ЭГII *P.verruculosum* позволило обнаружить закономерность в влиянии N-связанных гликанов на каталитические свойства этих ферментов. В случае ЦБГI и ЦБГII было показано, что удаление N-связанных гликанов, расположенных у входа в активный центр ферментов, приводит к увеличению каталитической активности, а удаление гликанов, расположенных вдоль активного центра (при гидролизе эти гликаны оказываются расположены между молекулой фермента и поверхностью нерастворимого субстрата), – к уменьшению активности этих ферментов. В случае ЭГII удаление N-связанных гликанов,

расположенных по обе стороны активного центра, приводит к увеличению каталитической активности фермента. Объяснения наблюдаемых эффектов автор обоснованно связывает с особенностями участия этих ферментов в процессе гидролиза и взаимодействия с субстратом.

Практическая значимость работы заключается в получении мутантных форм ЦБГ I, ЦБГ II и ЭГ II *P.verruculosum* с увеличенной каталитической активностью и определении компонентного состава двойных и тройных смесей этих целлюлаз, обладающих наибольшей гидролитической способностью по отношению к различным целлюлозосодержащим материалам (микрористаллическая целлюлоза, измельченная древесина осины). Полученные результаты могут быть использованы для разработки штаммов продуцентов целлюлаз на основе мицелиального гриба *P.verruculosum* с улучшенными промышленно-ценными свойствами.

Автореферат хорошо иллюстрирован и отражает большой объем проведенных исследований, следует отметить единообразие в изложении результатов и логическую завершенность исследований трех ферментов ЦБГ I, ЦБГ II и ЭГ II *P.verruculosum*.

Несущественным замечанием является отсутствие в автореферате электрофореграмм полученных мутантных и немутантных форм целлюлаз.

Результаты работы изложены в 10 публикациях, в том числе в 4 статьях в журналах, входящих в перечень ВАК РФ, и 6 тезисах докладов конференций.

По актуальности поставленных задач, методическому уровню и объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов работа Доценко А.С. полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842), а ее автор, Доценко Анна Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

« 8 » ноября 2016 г.

Директор БРЦ ВКПМ
д.б.н., проф.

Синеокий С.П.

Подпись Синеокого С.П. заверяю

Государственный научный центр Российской Федерации ФГБУ Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов («ГосНИИГенетика»), 117545, Россия, г. Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1, Тел.: +7 (495) 315-12-10; +7 (495) 315-07-74, E-mail: sineoky@genetika.ru



Синеокий
Вас *уч секретарь совета* *Восюшана Т*