

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Шеломова Михаила Дмитриевича «Оксидазы D-аминокислот из дрожжей: получение и структурно-функциональные исследования», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.5.4. – «Биохимия» и 1.5.6 – «Биотехнология»

Диссертационная работа Шеломова Михаила Дмитриевича посвящена получению дрожжевых оксидаз D-аминокислот с заданными свойствами. Оксидазы D-аминокислот являются практически значимыми ферментами, используемыми в медицинской диагностике и аналитической биотехнологии в пищевых производствах. Также этот фермент является основой крупнотоннажного процесса получения цефалоспориновых антибиотиков, который в свою очередь является критически важной технологией для фармацевтики.

Автором были получены шесть новых оксидаз D-аминокислот из дрожжей *Ogataea parapolyomorpha* DL-1, а также проведен мутагенез и объединение мутации в оксидазе D-аминокислот из дрожжей *Trigonopsis variabilis*. Данная работа представляет интерес как с практической, так и фундаментальной точки зрения.

В процессе выполнения работы диссертантом было решено несколько важных задач фундаментального и практического характера. На первом этапе впервые в мире были клонированы и изучены шесть генов, кодирующих оксидазы D-аминокислот, из одного организма. Оказалось, что новые ферменты обладают уникальными свойствами - как субстратной специфичностью, так и pH-профилями активности и стабильности. С рядом практически значимых субстратов многие новые ферменты обладали лучшими каталитическими параметрами среди всех известных ДААО. Полученные данные являются существенным вкладом в более глубокое понимание взаимосвязи структура-функция и биологической роли оксидазы D аминокислот в дрожжах.

Следующим этапом стала разработка биоинформационно-структурного подхода к поиску новых оксидаз D-аминокислот на основе результатов, полученных на предыдущем этапе. Добавление к известной методике поиска новых генов в геномах организмов по гомологии аминокислотных последовательностей стадии структурного анализа отобранных кандидатов позволило отличить гены оксидаз D-аминокислот от генов других похожих ферментов, а также предсказать их субстратную специфичность.

И в заключительной части работы были получены биокатализаторы на основе TvДААО с многоточечными заменами. Данные ферменты одновременно обладали самыми высокими каталитическими параметрами в реакции окисления цефалоспоринона С и самыми высокими стабильностями к инактивации под действием температуры и пероксида водорода среди известных оксидаз.

Исследованные в работе методы и подходы являются обоснованными, а результаты работы – достоверными. Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, является законченным самостоятельным и оригинальным исследованием. Поставленные в работе цели и задачи выполнены. Полученные результаты имеют важное теоретическое, методическое и практическое значение.

Диссертационная работа прошла хорошую апробацию и докладывалась на всероссийских и международных конференциях. Материал диссертации опубликован в 16 тезисах конференций, а также представлен в 6 статьях, все из которых опубликованы в журналах, включенных в системы цитирования Web of Science или Scopus.

Автореферат соответствует содержанию опубликованных работ, а также содержит достаточную информацию по обоснованию положений, выносимых на защиту.

Диссертационная работа Шеломова М.Д. полностью соответствует требованиям к работам, представленным на соискание учёной степени кандидата наук, а автор безусловно заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальностям 1.5.4, – «Биохимия» и 1.5.6 – «Биотехнология»

Руководитель

Курчатовского комплекса генетических исследований (ГосНИИгенетика)
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
доктор биологических наук, профессор
Яненко Александр Степанович

Контактные данные:

тел.: +7 (499) 196-90-53

e-mail: Yanenko_AS@nrcki.ru

Адрес: 123182, пл. Академика Курчатова, 1, Москва

Подпись Яненко А.С. заверяю
Главный ученый секретарь
НИЦ «Курчатовский институт»
Борисов К.Е.

11 мая 2023 года