

## Отзыв

на автореферат диссертации **Васиной Дарьи Владимировны «Изучение организации мультигенного семейства лакказбазидиального гриба *Trametes hirsuta* – эффективного деструктора лигнина»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Грибы рода *Trametes* играют важную роль в природных и техногенных экосистемах, активные деструкторы лигноцеллюлозных субстратов, ксенобиотиков, гуминовых веществ и других высокомолекулярных соединений. Одним из основных ферментов, участвующих в деградации природных полимеров и ксенобиотиков являются лакказы, синтезируемые этими грибами, и, в частности, возбудителем белой гнили *Trametes hirsuta*. Работа Васиной Дарьи Владимировны была направлена на решение новой и актуальной задачи - исследование мультигенного семейства лакказ *T. hirsuta*, закономерностей экспрессии и продукции его членов на молекулярном уровне, включающем анализ транскриптома, протеома и секретома.

Несомненным достоинством диссертации является использование самых современных методов для достижения цели.

Установлено наличие мультигенного семейства лакказ, включающего не менее 5 генов, кодирующих данный фермент, проведен *in silico* анализ их аминокислотных последовательностей. Изофермент лакказы LacA -мажорной и, по мнению диссертанта, конститутивный, остальные изоферменты - индуцибельные, экспрессия которых регулируется специфическими эффекторами. Наибольшее влияние  $\text{CuSO}_4$  оказывал на уровень экспрессии генов *lacA* (индукция экспрессии до 400 раз), *lacB* и *lacC* (до 100 раз). Растворимый лигнин максимально индуцировал экспрессию генов *lacB* и *lacE* (до 70-кратного увеличения). Интересно, что в секретоме *T. hirsuta* при культивировании на ЛЦ среде продуцируется два изофермента LacA и LacC, продукты только двух генов семейства – *lacA* и *lacC*, несмотря на значительный уровень транскрипции и других изоферментов лакказ.

Охарактеризован ферментный состав лигнин модифицирующей системы гриба и его изменения в разных условиях. *T. hirsuta* продуцирует внеклеточные гликозид-гидролазы, пептидазы, лакказы и гемовые пероксидазы и в отличие от других изученных возбудителей белой гнили древесины, имеющих преимущественно ферменты с целлюлазной и ксиланазной активностью, его ферменты проявляют в основном глюконазную и маннозидазную активности.

Впервые показано, что *T. hirsuta* при внесении в среду лигноцеллюлозы секретирует значительные количества цератолатанинов – низкомолекулярных белков, способных разрушать нековалентные связи в полисахаридах клеточной стенки. Анализ протеомов гриба *T. hirsuta* показал, что ионы меди – индукторы биогенеза лакказ увеличивают продукцию ферментов дыхательной цепи ( $\beta$ -субъединицы АТФ-синтазы), молекулярного шаперона семейства HSP70 и его активатора белка St1.

Не вызывает сомнений практическая значимость полученных результатов, которые могут служить основой для получения рекомбинантных ферментов с заданными свойствами и разработки эффективных технологий биоконверсии растительного сырья на основе грибов рода *Trametes*.

Принципиальных критических замечаний к данной работе нет. Ход экспериментов и рассуждений автора логичен и обоснован, работа выполнена на высоком научном уровне. Выводы диссертационной работы четко сформулированы и отражают наиболее значимые результаты работы. Результаты исследований наглядно иллюстрированы таблицами и рисунками, подтверждающими глубокий анализ экспериментальных данных, достаточно полно отражены в научных публикациях, апробированы на конференциях разного уровня. По материалам диссертации опубликовано 14 работ, из них 4 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Представленная работа является самостоятельным

и завершенным научным исследованием, имеющим большое теоретическое и практическое значение.

Содержание работы соответствует специальности 03.01.04 Биохимия.

Диссертационная работа «Изучение организации мультигенного семейства лакказ базидиального гриба *Trametes hirsuta* – эффективного деструктора лигнина» является научно-квалификационной работой, содержащей решение важной биохимической задачи. Работа полностью удовлетворяет требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ от 24.09.2013г. № 842, и отвечает всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, **Васина Дарья Владимировна**, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 Биохимия.

Стоянова Лидия Григорьевна  
Доктор биологических наук,  
ведущий научный сотрудник  
кафедры микробиологии биологического факультета  
МГУ имени М.В. Ломоносова 119234  
г.Москва, ул. Ленинские горы, 1 стр. 12  
Тел. 8 495 939 45-45  
Email: stoyanovamsu@mail/ru

Кураков Александр Васильевич  
Доктор биологических наук,  
Заведующий кафедрой микологии и альгологии  
Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова  
119899, Москва, у.Ленинские горы, 1/12  
Тел. 8-495-9393970  
E-mail: kurakov57@mail.ru

ПОДПИСЬ РУКИ  
ЗАВЕРЯЮ

Документовед биологического факультета

25.11.2015



Стояновой Л.Г.  
Куракова А.В.