

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Новотоцкой-Власовой Ксении Александровны «Холодоактивные липолитические ферменты психротрофных микроорганизмов, выделенных из многолетнемерзлых осадков» представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Диссертация Новотоцкой-Власовой К.А. посвящена крайне интересной и актуальной теме – получению и исследованию свойств липолитических ферментов микроорганизмов, выделенных из вечномерзлых пород. В изучении вечной мерзлоты и ее обитателей российские ученые традиционно занимают лидирующие позиции, поэтому продолжение этих работ с использованием молекулярно-биологических подходов в микробиологии является важным этапом, необходимым для более полной характеристики микробных сообществ и понимания механизмов их адаптации к экстремальным условиям существования.

Первая часть диссертационной работы включает результаты исследований, направленных на выделение микроорганизмов из криопэгов. Автором впервые выделены 20 штаммов микроорганизмов, обладающих липолитической активностью в условиях низких температур и высокой солености. Значительный интерес представляет часть диссертации, посвященная клонированию и экспрессии генов липолитических ферментов Грам-отрицательной бактерии *Psychrobacter cryohalolentis* K5<sup>T</sup>, ранее полученной из криопэга Колымской низменности. С использованием современных биоинформационных подходов Новотоцкой-Власовой К.А. проведена большая предварительная работа по анализу генома *P. cryohalolentis* K5<sup>T</sup> и идентификации генов потенциальных липаз/эстераз. На основании гомологии с известными представителями семейства альфа/бета-гидролаз были отобраны для дальнейшего изучения гены трех белков, проведены их амплификация и клонирование. Необходимо отметить, что тщательный анализ аминокислотных последовательностей целевых белков позволил решить проблемы, связанные с их экспрессией и/или получением в нативной форме. Так, в случае одного из белков (EstPc) делеция сигнальной последовательности способствовала значительному повышению уровня его синтеза в бактериальных клетках. В другом случае (Lip2Pc) получение липазо-специфического шаперона оказалось необходимым для разработки эффективной методики рефолдинга рекомбинантного белка.

Изучение полученных в работе ферментов обнаружило наличие у них ряда специфических свойств, представляющих интерес как для структурно-функциональных

исследований в области белковой инженерии, так и для биотехнологического применения. Так, все они обладают высокой активностью в широком диапазоне температур, включая низкие температуры (до 10°C), а два из них демонстрируют повышенную термостабильность. В процессе работы К.А. Новотоцкая-Власова успешно использовала широкий арсенал микробиологических и новейших молекулярно-биологических методов, соответствующих высокому теоретическому и методическому уровню работы. По теме диссертации опубликовано 19 работ, из них четыре статьи в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК, и патент РФ.

Данные, полученные Новотоцкой-Власовой К.А. в процессе исследования свойств липополитических ферментов микроорганизмов, выделенных из вечной мерзлоты, расширяют существующие представления о механизмах адаптации бактерий к условиям среды обитания на молекулярном уровне. Результаты работы открывают перспективы получения биологических продуктов с уникальными свойствами и представляют огромный интерес для биотехнологии. Автореферат достаточно подробно отражает этапы проведенных исследований и содержит квалифицированное обсуждение полученных данных. В целом, насколько можно судить по автореферату, работа отвечает всем требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, принятого ВАК при Минобрнауки РФ, а соискатель Новотоцкая-Власова Ксения Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Долгих Дмитрий Александрович  
Профессор Биологического факультета МГУ  
им. М. В. Ломоносова,  
доктор биологических наук

15 мая 2015 г.

119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ  
телефон 8(495)3368011

dolgikh@nmr.ru



Подпись руки  
Заверяю

Документовед биологического факультета МГУ