

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ МИКРООРГАНИЗМОВ
им. Г.К. Скрябина Российской академии наук
(ИБФМ РАН)

142290, Московская обл., г. Пущино, просп. Науки, д. 5
Тел./факс: (495) 956-33-70, тел. (495) 625-74-48, E-mail: boronin@ibpm.pushchino.ru, http://www.ibpm.ru
ИНН/КПП 5039000146/503901001, ОГРН 1025007771491, ОКПО 02699702, ОКВЭД 73.10, ОКОПФ 20903
Отдел №34 УФК по Московской области (ИБФМ РАН лицевой счет 20486Ц87560)
Р/с 4050181030002000104 в Отделении 1 Москва; БИК 044583001

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Института
биохимии и физиологии
микроорганизмов
им. Г.К. Скрябина Российской
академии наук,

чл.-корр. РАН, д.б.н. А. М. Боронин
«10» марта 2017 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской
академии наук

Диссертация Трубициной (Юревич) Любови Игоревны «Двухдоменные
лакказы бактерий рода *Streptomyces*: клонирование, экспрессия, характеристика
ферментов» выполнена в лаборатории микробной энзимологии Федерального
государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и
физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина Российской академии наук
(ИБФМ РАН), Федеральное агентство научных организаций.

В 2008 г. Трубицина (Юревич) Л.И. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет» с присуждением степени бакалавра биологии по направлению «биология», в 2010 г. – Государственное образовательное учреждение высшего и профессионального образования Пущинский государственный университет с присуждением степени магистра биологии по направлению «биология».

Трубицина (Юревич) Л.И. освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Пущинского государственного естественно-научного института (ПущГЕНИ), Министерство образования и науки РФ, по направлению 03.01.04 «Биохимия» в 2010–2015 гг. и успешно сдала следующие кандидатские экзамены: «История и философия науки», «Иностранный язык (английский)», «Биохимия». В период работы над диссертацией соискатель по совместительству работала в должности лаборанта, в настоящее время – в должности младшего научного сотрудника в ИБФМ РАН, Федеральное агентство научных организаций.

Научный руководитель – доктор биологических наук Леонтьевский Алексей Аркадьевич, заведующий лабораторией микробной энзимологии ИБФМ РАН, Федеральное агентство научных организаций, профессор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Пущинского государственного естественно-научного института (ПущГЕНИ), Министерство образования и науки РФ.

По результатам рассмотрения диссертации «Двухдоменные лакказы бактерий рода *Streptomyces*: клонирование, экспрессия, характеристика ферментов» принято следующее заключение:

Актуальность темы диссертационной работы Трубициной (Юревич) Л.И. обусловлена важностью изучения новых ферментов из класса оксидоредуктаз, исследованием их свойств и возможностью применения их в промышленных целях.

Диссертационная работа Трубициной (Юревич) Л.И. является законченным научным исследованием, научно-квалификационной работой, в которой изложены результаты, имеющие существенное значение для биохимии микроорганизмов и расширяющие представления о недавно обнаруженной и слабо изученной группе ферментов двухдоменных лакказ, и об их биотехнологическом потенциале.

Личное участие соискателя в получении результатов заключается в непосредственном проведении работы по поиску, клонированию и экспрессии генов бактериальных двухдоменных лакказ, по очистке и характеристике ферментов, поиску условий для кристаллизации лакказ, анализу трёхмерных структур лакказ, а также по подготовке материалов для публикации в научных журналах.

Достоверность результатов исследований, проведенных соискателем, подтверждается применением в работе современных методов исследований, компьютерных программ для обработки данных и использованием сертифицированного оборудования для измерений.

Новизна проведенных исследований обусловлена тем, что впервые очищены и детально охарактеризованы новые двухдоменные бактериальные лакказы. Из двух штаммов стрептомицетов клонированы гены двухдоменных бактериальных лакказ. Для двух новых лакказ получены кристаллы и проведен анализ трёхмерной структуры. Обнаружена устойчивость этих лакказ к азиду и фториду натрия в щелочных и кислых условиях и способность сохранять высокую активность при нейтральном значении рН. Впервые установлена причина низкой чувствительности двухдоменных лакказ к азиду натрия, показана возможность повышения окислительно-восстановительного потенциала лакказ.

Практическая значимость полученных результатов обусловлена тем, что охарактеризованные в работе лакказы являются привлекательными инструментами для биотехнологических процессов, потому что у них обнаружено сочетание высокой термостабильности, низкой субстратной

специфичности, способности работать при нейтральном и щелочных значениях рН и устойчивости к азиду и фториду. Имеется патент на одну из охарактеризованных лакказ.

Ценность научных работ соискателя состоит в том, что в них детально описаны новые двухдоменные лакказы, являющиеся термостабильными ферментами, проявляющими активность при нейтральном и щелочных значениях рН, устойчивые к азиду и фториду. Это расширяет представления о структуре и свойствах ферментов данной группы, а также о перспективах их практического применения.

Диссертационная работа Трубициной (Юревич) Л.И. соответствует специальности 03.01.04 – «биохимия».

Основные материалы диссертации полностью опубликованы в работах соискателя: в трёх статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК, в одной статье в сборнике трудов конференции, в шести тезисах конференций, в том числе с международным участием, а также в одном патенте.

Список публикаций автора по теме диссертационной работы:

Статьи:

1. Юревич Л.И., Лисов А.В., Леонтьевский А.А. Двухдоменная лакказа бактерии *Streptomyces lividans* Ac-1709 – термостабильный биокатализатор, активный при щелочных значениях рН // Научно-технический вестник Поволжья. – 2012. – №5. – С. 64-68.

2. Trubitsina L.I., Tishchenko S.V., Gabdulkhakov A.G., Lisov A.V., Zakharova M.V., Leontievsky A.A. Structural and functional characterization of two-domain laccase from *Streptomyces viridochromogenes* // Biochimie. – 2015. – V. 112. – P. 151-159.

3. Tishchenko S., Gabdulkhakov A., Trubitsina L., Lisov A., Zakharova M., Leontievsky A. Crystallization and X-ray diffraction studies of a two-domain laccase from *Streptomyces griseoflavus* // Acta Crystallographica Section F, Structural Biology Communications. – 2015. – V. 71. – Pt 9. – P. 1200-1204.

Патенты:

1. Юревич Л.И., Лисов А.В., Леонтьевский А.А. 2015. Патент РФ № 2539780. Рекомбинантная двухдоменная лакказа бактерии *Streptomyces griseoflavus* Ac-993, обладающая высокой термостабильностью и щелочным

оптимумом pH окисления фенольных соединений; фрагмент ДНК, кодирующий двухдоменную лакказу бактерии *Streptomyces griseoflavus* Ac-993; способ получения двухдоменной лакказы бактерии *Streptomyces griseoflavus* Ac-993.

Статья в сборнике трудов конференции:

1. Трубицина Л.И., Лисов А.В., Захарова М.В., Тищенко С.В., Габдулхаков А.Г., Гарбер М.Б., Леонтьевский А.А. Новые двухдоменные лакказы бактерий рода *Streptomyces* // Международная научная конференция: «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты». Сборник научных трудов. Беларусь, Минск, 2013. – С. 191-200.

Тезисы:

1. Юревич Л.И., Леонтьевский А.А. Распространённость медиодержащих оксидаз среди бактерий – представителей рода *Streptomyces* // 15-я Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных «Биология – наука 21 века» (18-22 апреля 2011г., Пущино). Сборник тезисов. Пущино, 2011. С. 49.

2. Юревич Л.И., Захарова М.В., Лисов А.В., Леонтьевский А.А. Бактериальные лакказы – клонирование, экспрессия и характеристика ферментов // 16-я Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных «Биология – наука 21 века» (16-21 апреля 2012 г., Пущино). Сборник тезисов. Пущино, 2012. С. 203

3. Юревич Л.И., Захарова М.В., Лисов А.В., Леонтьевский А.А. Новые бактериальные лакказы – двухдоменные ферменты с высокой термостабильностью // VIII Молодёжная школа-конференция с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии» (29-31 октября 2012 г., Москва). Сборник тезисов. Москва, 2012. С. 48-50.

4. Трубицина Л.И., Лисов А.В., Леонтьевский А.А. Двухдоменные бактериальные лакказы из штаммов *Streptomyces viridochromogenes* Ac-629 и *Streptomyces lividans* Ac-1709: физико-химические свойства и кинетические характеристики // 19-я Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных «Биология – наука 21 века» (20–24 апреля 2015 г., Пущино). Сборник тезисов. Пущино, 2015. – С. 144.

5. Трубицина Л.И., Лисов А.В., Захарова М.В., Леонтьевский А.А. Двухдоменные лакказы из бактерий рода *Streptomyces*: исследование структуры и свойств ферментов // II Пущинская школа-конференция "Биохимия, физиология и биосфера роль микроорганизмов". Сборник тезисов. Пущино, 2015. – С. 83-84.

6. Костарева О.С., Трубицина Л.И., Габдулхаков А.Г., Лисов А.В., Гарбер М.Б., Тищенко С.В. Предварительные данные рентгеноструктурного анализа кристаллов лакказы из *Streptomyces griseoflavus* Ac-993 // 19-я Международная

Пущинская школа-конференция молодых учёных «Биология – наука 21 века» (20–24 апреля 2015 г., Пущино). Сборник тезисов. Пущино, 2015. – С. 242.

Диссертация «Двухдоменные лакказы бактерий рода *Streptomyces*: клонирование, экспрессия, характеристика ферментов» Трубициной (Юревич) Любови Игоревны рассмотрена на заседании семинара лаборатории микробной энзимологии, лаборатории энзиматической деградации органических соединений и лаборатории молекулярной микробиологии 7 марта 2017 года и рекомендована к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – «биохимия».

Заключение принято на заседании Ученого Совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук, «9» марта 2017 г., протокол № 2.

Зав. лабораторией энзиматической деградации
органических соединений
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биохимии и
физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрябина Российской академии наук,

д.б.н.

Головлёва
Людмила Алексеевна

