

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д001.022.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело №

решение диссертационного совета от 17.10.2019 № 26

О присуждении Швецовой Светлане Владимировне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Особенности действия α -L-фукозидазы и сульфатазы из нового штамма мицелиального гриба *Fusarium proliferatum* LE1 в реакциях гидролиза и синтеза»

по специальности 03.01.04 – биохимия

принята к защите 30 мая 2019 года (протокол заседания № 20) диссертационным советом Д 001.022.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12 (утвержден Приказом Минобрнауки России от 11.04.12 №105/нк).

Соискатель Швецова Светлана Владимировна, 1986 года рождения,

В 2009 году соискатель окончила факультет тонкого органического и микробиологического синтеза Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета),

в 2017 году окончила аспирантуру на базе Санкт-Петербургского политехнического университета имени Петра Великого,

работает младшим научным сотрудником лаборатории энзимологии Отделения молекулярной и радиационной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Диссертация выполнена в лаборатории энзимологии Отделения молекулярной и радиационной биофизики Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт».

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Кульминская Анна Алексеевна, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Отделение молекулярной и радиационной биофизики, лаборатория энзимологии, заведующая.

Официальные оппоненты:

Падкина Марина Владимировна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», кафедра генетики и биотехнологии, профессор;

Шлейкин Александр Герасимович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», факультет пищевых биотехнологий и инженерии; Научно-образовательный центр химического инжиниринга и биотехнологий, профессор
дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном доктором химических наук, профессором, заведующим лабораторией биотехнологии ферментов Синицыным Аркадием Пантелеймоновичем и утвержденном заместителем директора по научной работе доктором биологических наук Федоровым Алексеем Николаевичем, указала, что диссертационное исследование выполнено автором на актуальную тему, на высоком уровне, является завершенным научно-практическим трудом, результаты оригинальны и вносят существенный вклад в фундаментальную науку, а также обладают практической ценностью.

Соискатель имеет 21 печатную работу, в том числе по теме диссертации опубликовано 18 работ (в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах), из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 работы (общим объемом 1,2 печатных листа), наиболее значимые из них следующие:

1. Shvetsova, S.V. The novel strain *Fusarium proliferatum* LE1 (RCAM02409) produces α -L-fucosidase and arylsulfatase during the growth on fucoidan / S.V. Shvetsova, E.V. Zhurishkina, K.S. Bobrov, N.L. Ronzhina, I.M. Lapina, D.R. Ivanen, T.Y. Gagkaeva, A.A. Kulminskaya // J. Basic. Microbiol. – 2015. – №55 – С. 471 – 479 (авторский вклад составил 70%).

2. Shvetsova, S.V. Characterization of a new α -L-fucosidase isolated from *Fusarium proliferatum* LE1 that is regioselective to α -(1→4)-L-fucosidic linkage in the hydrolysis of α -L-fucobiosides / S.V. Shvetsova, K.A. Shabalin, K.S. Bobrov, D.R. Ivanen, N.E. Ustyuzhanina, V.B. Krylov, N.E. Nifantiev, S.N. Naryzhny, V.G. Zgoda, E.V. Eneyskaya, A.A. Kulminskaya // Biochimie. – 2017. – №132. – P. 54-65 (авторский вклад составил 70%).

3. Швецова, С.В. Микробные сульфатазы / Швецова С.В., Кульминская А.А. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2. Химия. – 2018. – Т. 59. – № 4. – С. 243-256. Перевод: Shvetsova, S.V. Microbial sulfatases / Shvetsova S.V., Kulminskaya A.A. // Moscow University Chemistry Bulletin. – 2018. – Vol. 73. – N. 4. – С.139-151 (авторский вклад составил 70%).

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

1. Кусайкина Михаила Игоревича, доктора биологических наук, доцента, заместителя директора по научным вопросам Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук. Отзыв положительный, содержит замечания и вопросы:

1. Прежде всего, непонятно, какова структура использованного фукоидана и почему был выбран фукоидан, в котором практически 40 % ксилозы. Очень вероятно, что автор в качестве субстрата использовал смесь полисахаридов, поскольку фукоиданов с 9% содержанием остатков глюкозы неизвестно. Было ли определено, какие моносахаридные сульфатированы, какими гликозидными связями были соединены моносахариды?

2. По результатам ТСХ фукозидаза отщепляет не только несulfатированную фукозу, но и галактозу. Как такое возможно?

3. Методологически неверно была определена термостабильность и рН-стабильность. Следовало бы определять время полуинактивации фермента, т.е. время, за которое теряется 50% активности фермента при данной температуре или значении рН;

2. Коржиковой-Влах Евгении Георгиевны, кандидата химических наук, ведущего научного сотрудника, руководителя лаборатории полимерных сорбентов и носителей для биотехнологии Института высокомолекулярных соединений Российской академии наук. Отзыв положительный, содержит замечания и вопросы:

1. Не понятен выбор в качестве стационарной фазы для иммобилизации α -L-фукозидазы желатина, проявляющего термочувствительные свойства. Поведение и физическое состояние данного природного полимера сильно зависимо от температуры и должно значительно отличаться в диапазоне исследованных температур (10 – 80 °С).

2. Осталось непонятным как проводилось определение каталитической активности: в статических или в динамических условиях? Проводилось ли сравнение результатов, полученных с использованием этих двух подходов.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследований, широкой известностью и достижениями в данной отрасли науки.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана стратегия исследования, благодаря которой определены биохимические особенности двух гидролаз, мажорной α -L-фукозидазы и сульфатазы, обнаруженных и выделенных из мицелиального гриба *F. proliferatum* LE1;

предложены способы получения, очистки и детальной характеристики ранее не исследованных ферментных препаратов α -L-фукозидазы и сульфатазы из *F. proliferatum* LE1, на основании которых выявлена уникальность каждого из исследуемых в работе ферментов;

доказана перспективность и высокая эффективность использования иммобилизованного ферментного препарата α -L-фукозидазы из *F. proliferatum* LE1 в нескольких последовательных циклах реакций гидролиза и синтеза фукозилированных соединений в сравнении с действием свободного фермента в растворе;

введены новые представления об особенностях действия малоизученной группы ферментов, а именно сульфатазы из мицелиального гриба *F. proliferatum* LE1.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, вносящие вклад в расширение представлений о структурно-функциональных особенностях ферментов α -L-фукозидазы и сульфатазы из *F. proliferatum* LE1, участвующих в модификациях значимых биологических соединений, что расширяет границы фундаментальных знаний о полученных в работе ферментов и их практической применимости;

применительно к проблематике, которой посвящено диссертационное исследование, результативно использован комплекс базовых методов, применяемых для выделения и детальной характеристики ферментных препаратов из микроорганизмов, а также получения и характеристики углеводсодержащих соединений;

изложены доводы, позволяющие классифицировать каждый из исследуемых в работе ферментных препаратов в соответствии с современными подходами и имеющимися базами данных для каждой из рассматриваемых групп белков;

раскрыты уникальность полученной α -L-фукозидазы и сульфатазы из *F. proliferatum* LE1 в сравнении с известными ферментами из грибов;

изучены структурно-функциональные особенности α -L-фукозидазы и сульфатазы из *F. proliferatum* LE1;

проведена модернизация методов осуществления реакции трансгликозилирования, катализируемой α -L-фукозидазой, путем использования иммобилизованного ферментного препарата, что обеспечивает получение нового эффективного инструмента для целевого синтеза значимых фукоолигосахаридов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены на исследовательском уровне методы культивирования штамма продуцента, очистки и получения ферментных препаратов, а также методы иммобилизации ферментного препарата α -L-фукозидазы с перспективой многократного использования биокатализатора в реакциях гидролиза и синтеза;

определен спектр гидролитической активности штамма *F. proliferatum* LE1 при росте на средах различного состава, кинетические параметры реакций гидролиза, катализируемых ферментами α -L-фукозидазой и сульфатазой в отношении различных субстратов, систематическое положение исследуемых α -L-фукозидазы и сульфатазы из *F. proliferatum* LE1 в соответствующих современных базах данных ферментов, а также условия проведения и значения эффективности реакций трансгликозилирования, катализируемых α -L-фукозидазой, которые могут учитываться при разработке экспериментальных моделей получения фукозилированных соединений требуемой структуры;

создана модель эффективного иммобилизованного биокатализатора α -L-фукозидазы;

представлены рекомендации по дальнейшему применению новых ферментных препаратов в исследовательских и практических целях для трансформации сульфатированных или фукозилированных соединений.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

результаты экспериментальных работ получены на современном сертифицированном оборудовании, с использованием методов, оптимально подобранных для решения поставленных задач, и обработаны адекватными статистическими приемами;

теория и идеи построены и базируются на известных проверяемых данных, сформулированных на основе тщательного анализа большого количества современной отечественной и зарубежной научной литературы по теме диссертационного исследования;

использован анализ полученных в диссертационном исследовании результатов и результатов, полученных другими группами ученых в рассматриваемой области;

установлена принадлежность исследуемых в работе α -L-фукозидазы и сульфатазы из *F. proliferatum* LE1 к определенной группе ферментов в современной классификации;

использованы современные биохимические и биофизические методы получения и характеристики продуктов, а также оценки эффективности реакций ферментативного синтеза фукозилированных олигосахаридов.

Личный вклад соискателя состоит в:

непосредственном участии в постановке цели и задач исследования; составлении плана экспериментальных исследований; проведении экспериментов и получении исходных данных; статистической обработке и интерпретации полученных данных; апробации результатов исследования на всероссийских и международных конференциях; подготовке публикаций по выполненной работе.

На заседании 17.10.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Швецову С.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 27 человек, из них 12 докторов наук по специальности 03.01.04 — «Биохимия» (7 докторов биологических наук и 5 докторов медицинских наук), участвовавших в заседании из 35 человек, входящих в состав совета, проголосовали:

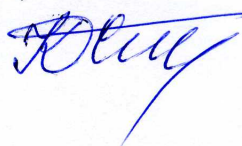
«за» — 27, «против» — 0, недействительных бюллетеней — 0.

Председатель диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



 Васильев В. Б.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук



Хныченко Л. К.

17 октября 2019 г.