

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Панина Николая Владимировича «Направленный мутагенез пенициллинацилазы из *Escherichia coli* для изменения каталитических свойств и стабильности», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.01.15 – кинетика и анализ и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология)

Актуальность диссертационной работы Н.В.Панина определяется двумя аспектами. Во-первых, пенициллинацилаза из *E. coli* (есПА) уже используется в фармакологии для производства бета-лактамовых антибиотиков, то есть работа имеет практическое значение. Во-вторых, основу диссертации составляют результаты серьезного фундаментального исследования с применением новейших методов белковой инженерии.

В первой части работы автор представил результаты биоинформатического анализа данных о структуре ПА, с помощью которого удалось установить, что двойные мутации в гене есПА могут многократно повысить эффективность ацилирования ферментом субстрата, то есть увеличить его каталитическую активность без утраты термостабильности. Надо отметить, что одиночная мутация T68S, напротив, снижает активность есПА и ее стабильность. Во второй части работы автор исследовал возможность повышения эффективности синтеза ампициллина за счет мутаций в участке связывания амидной части субстрата. Одна из подобных мутаций, bF256R, и, в особенности в комбинации с aR145G, приводила к значительному улучшению параметров синтеза бета-лактамовых антибиотиков. С помощью тех же технологий молекулярного моделирования Н.В.Панину удалось выявить две мутации для повышения стереоселективности субстратов есПА. Как указывает автор, их можно рекомендовать для улучшения селективности в реакции ацилирования аминоспиртов амидом R-миндальной кислоты. Значительная часть диссертационной работы посвящена изучению мутаций, способных повысить стабильность есПА. В этой части автор использовал массивы данных по структуре ферментов из бактерий разных видов и выявил перспективную мутацию bD488N, которая может привести к повышению щелочной и операционной стабильности есПА.

Работа Н.В.Панина производит позитивное впечатление в первую очередь благодаря стремлению автора выявить не только мутации, которые могут привести к улучшению биотехнологических свойств есПА, но и определить их последствия для молекулы в

целом. Поэтому все исследование кажется продуманным и цельным, что не так часто характеризует квалификационные работы. Отмечу, что автору присуща скромность в оценке своих заслуг; он практически не упоминает тот факт, что при его участии поданы три заявки на изобретение, и только вскользь упоминает о том, что разработал программное обеспечение для анализа реакций фермента с субстратом в условиях изменяющихся концентраций реагентов. Лично мне хотелось бы скорее увидеть практическое воплощение результатов рассматриваемой работы в реальных формах ПА. Слабой стороной автореферата (но не работы) я считаю отсутствие каких-либо сведений о методах, использованных автором в работе в частности в разделе «Анализ экспериментальных данных». Неясно, как проводился этот анализ, и насколько близки полученные данные к расчетным. Однако считаю это не недостатком, а скорее недоработкой, вызванной энтузиазмом автора и тем миром, в котором существует большинство специалистов по белковым структурам; для них собственные технологии понятны и очевидны.

Работы Н.В.Панина представлены в статьях, опубликованных в международных журналах, и докладывались на нескольких конференциях, включая международные в Москве, Японии и Италии.

Таким образом, диссертационная работа Николая Владимировича Панина «Направленный мутагенез пенициллинацилазы из *Escherichia coli* для изменения каталитических свойств и стабильности», согласно автореферату является законченным исследованием актуальной и практически важной проблемы современной химии и биотехнологии и отвечает всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 02.01.15 – кинетика и анализ и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

И.о. Зав. отделом клеточных культур  
ФГБУН Института цитологии РАН, д.б.н.

Б.А.Маргулис

ИНЦ РАН Тихорецкий пр. 4 Санкт-Петербург 194064  
тел 812-2973794, эл почта margulis@incras.ru

