

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Захаровой Галины Сергеевны “Анионная пероксидаза табака: получение рекомбинантного фермента и его применение как компонента биоаналитических систем”, представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) и 03.01.04 – биохимия.

Объектом исследования, проведенного Захаровой Г.С., является пероксидаза табака. Данный фермент рассматривается как альтернатива широко применяющейся сегодня на практике пероксидазе хрена, так как по ряду свойств пероксидаза табака значительно превосходит последнюю. Однако возможность практического применения ферментов напрямую зависит от их доступности. Поэтому диссертанту необходимо было решить задачу повышения выхода пероксидазы табака. Так как выделение и очистка пероксидаз из природных источников сопряжены с рядом трудностей, в работе Захаровой Г.С. был использован метод гетерологичной экспрессии фермента в клетках *E. coli*. При этом пероксидаза табака накапливалась в клетках в нерастворимой неактивной форме, что типично для экспрессии белков со сложной структурой в прокариотических клетках. В этом случае для получения активного рекомбинантного фермента требуется реактивировать нерастворимые тельца включения. Как правило, эффективность такой реактивации (рефолдинга) бывает невысока. Первая часть диссертационной работы Захаровой Г.С. посвящена решению данной проблемы в отношении пероксидазы табака. Проведенная оптимизация условий культивирования и реактивации фермента позволили в разы повысить выход активной пероксидазы табака по сравнению с ранее применявшимися методиками и достичь очень высокой эффективности реактивации фермента (около 84 %).

Во второй части работы Захаровой Г.С. изучены способы применения пероксидазы табака на практике. Это, в первую очередь, при проведении иммуноферментного анализа, а также для включения в состав биосенсоров. В ходе выполнения работы диссертантом были получены конъюгаты рекомбинантной пероксидазы табака с антителами. Их использование при проведении иммуноанализа в сравнении со «стандартными» антителами, мечеными пероксидазой хрена, показало, что пероксидаза табака обеспечивает большую чувствительность анализа как при колориметрической, так и при хемилюминометрической детекции. Здесь стоит отметить, что полученные данные имеют большое практическое значение, так как иммуноферментный анализ является одним из самых распространенных аналитических методов во многих областях науки и медицины. Основной вопрос, который рассматривал диссертант в отношении применения пероксидазы табака как компонента безреагентных биосенсоров, - влияние различных способов иммобилизации фермента на электроде на конечные характеристики биосенсора. Интерес диссертанта к данной проблеме связан, по-видимому, с невысокой эффективностью переноса электронов для данного типа биосенсоров в целом. Сравнение адсорбции фермента на поверхности электрода и его химической иммобилизации, представленное в работе Захаровой Г.С., говорит о преимуществах последнего. Использование химических методов привело к повышению стабильности пероксидазы табака, что выразилось в большем линейном диапазоне определения концентрации пероксида водорода.

Автореферат диссертации написан грамотным научным языком, аккуратно оформлен и хорошо иллюстрирован. Результаты работы опубликованы в трех статьях в двух международных и российском рецензируемых журналах, входящих в перечень Web of Science и Перечень ведущих научных изданий ВАК РФ. По своему методическому уровню, объему представленного материала, его актуальности, практической значимости результатов, а также научной новизне работа Захаровой Г.С. полностью соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Захарова Галина Сергеевна, – присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальностям 03.01.06 – биотехнология (в том числе нанобиотехнологии) и 03.01.04 – биохимия.

Зав. кафедрой химии природных соединений
профессор химического факультета
ФГБУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»
член-корреспондент РАН, доктор химических наук

Донцова О.А.

119091 Москва ГСП-1
Ленинские Горы, д.1, стр.3
МГУ, Химический факультет
тел. (495) 939-1671
dekanat@chem.msu.ru

