

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.075.04,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КРАСНОЯРСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ФИЦ
КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 09.04.2019 № 4

О присуждении Самойловой Юлии Валерьевне, гражданке Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изучение свойств бактериальных термостабильных липолитических ферментов и биокатализаторов в реакциях гидролиза и переэтерификации» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), принята к защите 15.01.2019 (протокол заседания № 1) диссертационным советом Д 003.075.04, созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН, КНЦ СО РАН), Министерство науки и высшего образования РФ, 660036, г. Красноярск, Академгородок д. 50, создан приказом Минобрнауки № 21/нк от 24.01.2017.

Соискатель Самойлова Юлия Валерьевна 1990 года рождения. В 2013 году соискатель окончила специалитет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (НГУ), г. Новосибирск, Минобрнауки, по специальности «Химия», присуждена квалификация «Химик», в 2017 году

окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ, по специальности 02.00.15 «Кинетика и катализ».

Работает младшим научным сотрудником лаборатории каталитических методов преобразования солнечной энергии Отдела нетрадиционных каталитических процессов в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук» (ИК СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Диссертация выполнена в лаборатории каталитических методов преобразования солнечной энергии Отдела нетрадиционных каталитических процессов в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук (ИК СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Сорокина Ксения Николаевна, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук» (ИК СО РАН), г. Новосибирск, Министерство науки и высшего образования РФ, лаборатория каталитических методов преобразования солнечной энергии Отдела нетрадиционных каталитических процессов, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Ефременко Елена Николаевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ), г. Москва, лаборатория эковиокатализа кафедры

химической энзимологии Химического факультета, заведующая лабораторией;

Гилева Ирина Павловна, доктор биологических наук, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область, отдел геномных исследований и разработки методов ДНК-диагностики поксвирусов, ведущий научный сотрудник
дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН), г. Владивосток, в своем положительном отзыве, подписанном Бакуниной Ириной Юрьевной, доктором химических наук, доцентом, ведущим научным сотрудником лаборатории химии ферментов; Ермаковой Светланой Павловной, доктором химических наук, доцентом, заведующей лабораторией химии ферментов; Маляренко Олесей Сергеевной, кандидатом химических наук, научным сотрудником лаборатории химии ферментов, указала, что диссертация представляет собой завершенную научно-исследовательскую работу, выводы и научные положения, сформулированные в диссертации, полностью соответствуют результатам исследования и аргументированы. Отмечено, что представленная к защите диссертационная работа отвечает требованиям действующего «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (Постановление Правительства РФ от 04.09.2013 г. № 842, с изменениями Постановление Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748, 29.05.2017 г. № 650).

Соискатель имеет 37 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 16 работ, из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, входящих в базу цитирования Scopus/Web of Science, опубликовано 5 работ, а также 10 публикаций в сборниках докладов

научных конференций и 1 монография. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, объем научных изданий (статей) составляет 53 стр., авторский вклад – 75%.

Наиболее значимые публикации:

1. Samoylova Y.V. Cloning, expression and characterization of the esterase estUT1 from *Ureibacillus thermosphaericus* which belongs to a new lipase family XVIII / Y.V. Samoylova, K.N. Sorokina, M.V. Romanenko, V.N. Parmon // *Extremophiles*. – 2018. – V. 22. – № 2. – P. 271-285.
2. Samoylova Y.V. Preparation of stable cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) of a *Ureibacillus thermosphaericus* esterase for application in malathion removal from wastewater / Y.V. Samoylova, K.N. Sorokina, A.V. Piligaev, V.N. Parmon // *Catalysts*. – 2018. – V. 8. – № 4. – P. 154.
3. Самойлова Ю.В. Перспективы применения ферментативной переэтерификации масел для получения модифицированных жиров / Ю.В. Самойлова, К.Н. Сорокина, В.Н. Пармон // *Катализ в промышленности*. – 2016. – Т. 16. - № 3. – С. 57-63.
4. Самойлова Ю.В. Применение иммобилизованной рекомбинантной липазы бактерии *Geobacillus stearothermophilus* G3 в реакции переэтерификации подсолнечного и гидрированного соевого масла / Ю.В. Самойлова, А.В. Пилигаев, К.Н. Сорокина, В.Н. Пармон // *Катализ в промышленности*. – 2016. – Т. 16. - № 5. – С. 66-74.
5. Самойлова Ю.В. Применение иммобилизованной рекомбинантной липазы бактерии *Geobacillus stearothermophilus* G3 для получения метиловых эфиров жирных кислот / Ю.В. Самойлова, А.В. Пилигаев, К.Н. Сорокина, А.С. Розанов, С.Е. Пельтек, А.А. Новиков, Н.Р. Альмяшева, В.Н. Пармон // *Катализ в промышленности*. – 2015. – Т. 15. - № 6. – С. 90-96.

На диссертацию и автореферат поступило 3 отзыва. Все отзывы положительные. Отзыв кандидата биологических наук Веряскиной Ю.А., научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики ФГБУН Института

молекулярной и клеточной биологии СО РАН (ИМКБ СО РАН) замечаний не содержит. В отзыве доктора биологических наук, профессора Толстиковой Т.Г., заведующей лабораторией фармакологических исследований ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН (НИОХ СО РАН) имеется замечание: планируется ли в дальнейшем проведение масштабированности в получении данного фермента, если да, то какова экономическая сторона вопроса. В отзыве кандидата биологических наук Абдуллатыпова А.В., научного сотрудника лаборатории биотехнологии и физиологии фототрофных организмов Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук (ИФПБ РАН) – обособленного структурного подразделения ФГБУН Федерального исследовательского центра «Пушинский научный центр биологических исследований РАН» (ФИЦ ПНЦБИ РАН) имеются следующие замечания: насколько отобранные на начальном этапе продуценты липаз отличались по липолитической активности и как именно она оценивалась; субстратную специфичность эстеразы следовало оценивать в ряду триацетин-трибутирин-масло; можно ли в данном случае ориентироваться на константу скорости при исследовании субстратной специфичности фермента; можно ли продумать систему чашечного скрининга, учитывающую устойчивость фермента к метанолу и способность гидролизовать целевые липиды и проводились ли в лаборатории попытки подобной работы; чем обусловлен выбор концентраций 10 и 30% для органических растворителей, и что являлось растворителем для гексана и хлороформа; насколько актуально осуществлять гидролиз малатиона с точки зрения экотоксичности пестицида и продукта его гидролиза, а также с точки зрения скорости их биоразложения.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью и высокой квалификацией специалистов в области биотехнологии ферментов и биокаталитических систем, а также соответствием основных направлений исследований задачам диссертационной работы Самойловой Ю.В. Исследовательский коллектив

Лаборатории химии ферментов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН) занимается изучением структуры и функций биологических макромолекул (белки, полисахариды), механизма действия ферментов и биотехнологических аспектов их применения, и имеет высокую квалификацию по теме диссертации, что подтверждается публикациями и выполняемыми проектами. Ефременко Е.Н. (г. Москва) является специалистом в разработке биокаталитических систем и процессов на их основе для решения различных биотехнологических задач экологической направленности; занимается исследованием разрабатываемых биокатализаторов на основе клеток микроорганизмов и ферментов, и иммобилизацией элементов, составляющих биокаталитические системы, что существенно перекликается с содержанием диссертации Самойловой Ю.В. Гилева И.П. (р.п. Кольцово, Новосибирская область) является специалистом в области молекулярной биологии и генетики; хорошо знакома со спецификой диссертационной работы соискателя ученой степени, поскольку изучает получение, выделение и свойства рекомбинантных белков вирусов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

выделены природные штаммы бактерий, перспективные для выделения липолитических ферментов;

получена новая рекомбинантная термостабильная эстераза estUT1 бактерии *Ureibacillus thermosphaericus* UT1, обладающая стабильностью в ряде органических растворителей (метанол и этанол);

установлена принадлежность эстеразы estUT1 к новому семейству бактериальных липолитических ферментов;

доказано увеличение продукции эстеразы estUT1 в растворимой фракции клеточного лизата при коэкспрессии с шаперонами *E. coli*;

разработана математическая модель, описывающая процесс иммобилизации эстеразы estUT1 методом поперечной сшивки ферментных агрегатов, что позволило оптимизировать процесс получения биокатализатора;

предложен подход эффективного гидролиза фосфорорганического инсектицида малатиона с использованием биокатализатора на основе поперечно сшитых агрегатов эстеразы для очистки стерилизованных муниципальных сточных вод, позволяющий проводить очистку с высокой конверсией в течение многих циклов эксплуатации;

предложен подход к биокаталитической переэтерификации растительных масел с использованием термостабильной рекомбинантной липазы бактерии *Geobacillus stearothermophilus* G3, ковалентно иммобилизованной на мезопористом силикагеле, для получения метиловых эфиров жирных кислот (как компонента биодизельного топлива) и модифицированных пищевых жиров.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано существование нового семейства бактериальных липолитических ферментов, что расширяет представления о свойствах липолитических ферментов и дополняет их классификацию;

исследованы свойства новой рекомбинантной термостабильной бактериальной эстеразы, перспективной для применения в реакции гидролиза различных соединений со сложноэфирными группами с алифатическими радикалами средней длины;

доказана применимость биокатализатора на основе эстеразы бактерии *U. thermosphaericus* UT1 для очистки сточных вод на примере гидролиза малатиона;

изучены свойства биокатализатора на основе липазы бактерии *G. stearothermophilus* G3 в реакциях переэтерификации и метанолиза масел и получены данные, свидетельствующие об их применимости для получения биотоплива и модифицированных пищевых жиров;

применительно к проблематике диссертации результативно использован метод поверхности отклика для оптимизации условий иммобилизации эстеразы методом поперечной сшивки ферментных агрегатов.

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

определены перспективы применения полученной рекомбинантной термостабильной эстеразы в биотехнологических процессах, основанных на реакции гидролиза сложных эфиров, в том числе в процессах, совмещенных с водоочисткой муниципальных сточных вод;

установлено, что коэкспрессия эстеразы бактерии *U. thermosphaericus* UT1 с шаперонами *E. coli* увеличивает выход фермента в растворимой фракции белка;

разработан биокатализатор на основе рекомбинантной эстеразы бактерии *U. thermosphaericus* UT1, перспективный для применения в реакции гидролиза инсектицида малатиона;

представлены результаты применимости иммобилизованной липазы бактерии *G. stearothermophilus* G3 в реакциях переэтерификации и метанолиза масел.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ: использование современных микробиологических, молекулярно-биологических и аналитических методов, воспроизводимостью получаемых данных и статистическими методами их обработки;

теория построена на известных, проверяемых данных и согласуется с опубликованными данными по теме диссертации и в смежных областях;

использованы современные способы обработки данных с помощью метода поверхности отклика, включая регрессионный и дисперсионный анализ для оптимизации параметров иммобилизации фермента.

Личный вклад соискателя состоит в: обсуждении цели и постановке задач исследования, планировании и проведении экспериментов, получении

рекомбинантных ферментов и изучении их свойств, разработке биокатализаторов на основе ферментов, исследовании биокатализаторов в реакциях гидролиза и переэтерификации, обработке и интерпретации полученных данных, апробации результатов исследования на научных конференциях и подготовке публикаций.

На заседании **9 апреля 2019** года диссертационный совет принял решение присудить **Самойловой Ю.В.** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – **18**, против – **0**, недействительных бюллетеней – **1**.

Зам. председателя
диссертационного совета,
д.м.н., профессор, академик РАН



И.И. Гительзон



Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н., доцент



Е.Н. Есимбекова

09.04.2019 г.