

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

комиссии диссертационного совета Д 350.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Макрушина Кирилла Валерьевича на тему: «L-лизин- $\alpha$ -оксидаза гриба *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D» выполнена в лаборатории адаптации микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина» Российской академии наук (ИБФМ РАН), представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология (биологические науки)

**Соответствие соискателя ученой степени требованиям, необходимым для допуска к защите.** Макрушин К.В. соответствует требованиям, изложенным в п. 3 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.: имеет высшее образование, подтвержденное дипломом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» с присуждением квалификации «Биолог» по специальности «Биология», в 2006 г.; и дипломом Федерального государственного бюджетного учреждения науки высшего профессионального образования «Пушкинский государственный университет» (Пущ ГУ) с присуждением степени Магистра биологии по направлению «Биология». Работая в должности лаборанта исследователя с 2008 г., Макрушин К.В. подготовил диссертацию в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина» Российской академии наук (ИБФМ РАН), давшем положительное заключение по данной диссертации; сдал кандидатские экзамены, о чем представлена справка.

**Соответствие диссертации специальности, по которой совету предоставлено право защиты.** Диссертация Макрушина К. В. выполнена в лаборатории адаптации микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина» Российской академии наук (ИБФМ РАН), под руководством кандидата биологических наук Аринбасаровой Анны Юрьевны, на современном научно-методическом уровне с использованием микробиологических, биотехнологических, биохимических и статистических методов исследования. Члены комиссии считают, что диссертация Макрушина К.В. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», а также паспорту специальности 03.02.03 – микробиология в

областях исследований по пунктам 2 - «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов», 5 - «Обмен веществ микроорганизмов» и 10 - «Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине».

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором. Выполнение требований к публикации основных научных результатов диссертации.** По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 5 статей в рекомендованных ВАК РФ рецензируемых научных журналах, входящих в международные базы данных.

Автор самостоятельно провел информационный поиск, анализ литературных источников. Вместе с научным руководителем он сформулировал цель и задачи работы, проанализировал и обобщил полученные результаты. Все лабораторные исследования выполнены автором лично или при активном его участии. Оформление первичной документации, статистическая обработка результатов проведены автором самостоятельно. Макрушин К. В. непосредственно принимал участие в подготовке и написании научных публикаций по теме диссертации. Присвоения авторства чужого научного труда (плагиата), результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства, в данной диссертации не усматривается.

Диссертационная работа изложена на 131 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: Введение, Обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», главу «Результаты и обсуждение», Заключение, Выводы, Список сокращений. Список литературы включает 235 источников, в том числе 49 в отечественных и 186 в зарубежных изданиях.

**Актуальность темы** диссертационной работы Макрушин К.В. обусловлена важностью получения гомогенного препарата L-лизин- $\alpha$ -оксидазы, одного из перспективных ферментов в энзимотерапии опухолей. Актуальным является отбор активного штамма-продуцента, разработка эффективной технологии получения фермента, а также изучение физико-химических свойств необходимых для дальнейшего применения L-лизин- $\alpha$ -оксидазы для медицинских исследований.

Диссертационная работа Макрушина К.В. является законченным научным исследованием, научно-квалификационной работой, которая посвящена поиску активного продуцента, подбору условий культивирования, разработке методов очистки, позволяющих получать гомогенный препарат для использования в медицинских исследованиях, а также выяснению функциональной роли L-лизин- $\alpha$ -оксидазы для продуцента. По совокупности представленных результатов диссертационная работа может быть классифицирована как существенное научное достижение в области микробиологии.

**Цель работы** – получить гомогенный препарат ЛО для медицинских исследований, а также показать возможную функциональную роль внеклеточной ЛО для продуцента.

**Новизна проведенных исследований обусловлена** тем, что выделен новый высокоактивный природный штамм-продуцент ЛО, который идентифицирован и депонирован в ВКМ (ИБФМ РАН) как *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D. Впервые обнаружено, что синтез L-лизин- $\alpha$ -оксидазы происходит на средах, содержащих семена как культурных, так и диких злаковых. Подобраны условия биосинтеза, позволяющие получить высокий уровень накопления фермента в ростовой среде, достигающий 175 Е/г субстрата, что существенно выше такового, описанного в литературе. Впервые показано, что биосинтез фермента сопровождается накоплением в среде пипеколиновой кислоты и пероксида водорода - элиситоров системной устойчивости растений. Предложены два метода очистки фермента, в том числе - оригинальный метод, основанный на осаждении L-лизин- $\alpha$ -оксидазы из культуральной жидкости солями меди. Получен гомогенный препарат L-лизин- $\alpha$ -оксидазы с высокой активностью (100 Е/мг белка) и выходом 55-60 %. Исследованы кинетические характеристики фермента: изучена субстратная специфичность, оценены коэффициент Хилла и константа Михаэлиса – Ментен. Впервые показана функциональная роль L-лизин- $\alpha$ -оксидазы как фактора конкуренции гриба *Trichoderma* с бактериями и фитопатогенными грибами.

На основании анализа поступившей работы комиссия пришла к заключению о возможности защиты кандидатской диссертации Макрушина Кирилла Валерьевича по теме «L-лизин- $\alpha$ -оксидаза гриба *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D» в диссертационном совете Д 350.002.01 при ФБУН ГНЦ ПМБ.

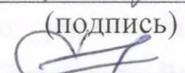
Члены комиссии:

доктор биол. наук Коломбет Любовь Васильевна (председатель)



(подпись)

доктор биол. наук Игнатов Сергей Георгиевич



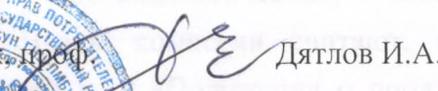
(подпись)

доктор мед. наук Дентовская Светлана Владимировна



(подпись)

Председатель диссертационного совета  
Д 350.002.01, академик РАН, д.р. мед. наук, проф.



Дятлов И.А.

Ученый секретарь диссертационного  
совета Д 350.002.01, канд. биол. наук



Фурсова Н.К.

