

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки Институт  
молекулярной и клеточной биологии Сибирского  
отделения Российской академии наук, д.б.н.  
Демаков С.А.



22 ноября 2021 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию БЕЛЕНЬКОЙ Светланы Валерьевны «СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНОГО ХИМОЗИНА АЛТАЙСКОГО МАРАЛА (CERVUS CANADENSIS SIBIRICUS)», представленной к защите на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, биологические науки

### **Основные научные результаты и их актуальность для науки и практики**

Работа Светланы Валерьевны Беленькой посвящена идентификации в геноме, выделению и клонированию последовательности, экспрессии в про- и эукариотических системах гена химозина алтайского марала, а также изучению свойств этого фермента, полученного разными способами. Работа имеет как фундаментальное (расширение представлений о многообразии и свойствах аспарагиновых протеаз из немодельных объектов), так и прикладное значение (использование химозинов с разными свойствами в пищевой промышленности). Светлана Валерьевна успешно определила структуру гена в геноме марала, выделила целевые последовательности с помощью ПЦР, получила рекомбинантные плазмиды и экспрессию гена в разных системах. В результате были исследованы биохимические свойства химозина марала, выделенного как из эукариотических, так и из прокариотических систем.

### **Общая оценка работы**

Диссертация хорошо структурирована, написана доступным языком по стандартной схеме и представлена на 115 страницах машинописного текста. Работа проиллюстрирована 30 рисунками, 12 из которых находятся в главе «Обзор литературы», большая часть рисунков получена самим автором.

Во введении автор четко формулирует актуальность темы, цели и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, а также апробацию результатов и вклад автора.

В первой главе, состоящей из 37 страниц, приведен обзор литературы, где автор описывает многообразие и биохимические свойства аспарагиновых протеаз. Особый акцент

делается на химозине как на главном объекте исследования. Автор обосновывает выбор химозина как промышленного коагулянта молока.

Вторая глава («Материалы и методы») содержит краткое описание использованных материалов и методологических подходов.

В раздел «Результаты и обсуждение» (объемом 28 страниц) автор подробно описывает полученные данные и обсуждает их. Этот раздел хорошо иллюстрирован.

В главе «Заключение» автор кратко пересказывает содержание всей работы, обобщает полученные данные из разных задач, делает выводы о возможности практического использования полученного препарата.

Глава «Выводы» содержит пять пунктов, все выводы сделаны на основе полученных автором результатов, достоверность которых не вызывает сомнений. Результаты опубликованы в пяти журналах, рекомендованных ВАК (импакт-фактор одного из журналов 2,5), причем во всех публикациях Светлана Валерьевна является первым автором.

Список литературы включает 130 источников, большинство процитированных работ опубликованы в ведущих журналах по данной тематике.

Автореферат написан хорошо, основные результаты и выводы диссертационной работы там полностью представлены.

### **Научно-практическая значимость**

Проведенное исследование показывает новые биохимические свойства химозина оленьих, полученный рекомбинантный белок может быть использован в пищевой индустрии.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Результаты работы могут представлять значительный интерес для научно-исследовательских организаций, занимающихся изучением свойств ферментов (например, для Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН). Как уже отмечено выше, полученный рекомбинантный химозин марала может найти применение в пищевой промышленности (например, инновациями в технологиях переработки сельскохозяйственной продукции занимается Алтайский государственный аграрный университет).

### **Общие замечания**

В обзоре литературы не хватает главы, описывающей сложности таксономии и систематики оленевых. Тогда было бы понятно, почему авторы придерживаются описания вида как *Cervus canadensis sibiricus*, и отвергают классификацию этого вида как *Cervus elaphus sibiricus*, как это принято ведущими отечественными систематиками.

Одним из серьезных недостатков работы является обнаружение большего количества интронов, чем экзонов в одном гене, это противоречит определению этих частей гена. Возможно, автор перепутал один из нетранслируемых районов экзона с интроном. Эта неверная цифра присутствует как в основных положениях, так и в выводах.

Под названием «Рисунок 1.9» в работе представлены два разных рисунка на стр. 35 и 44. Рисунок 3.14 отсутствует, сразу после 3.13 следует 3.15.

Филогенетические деревья на рисунках 3.1. и 3.3 построены неправильно, о чем свидетельствует попадание в одну кладу коровы и байкальской нерпы относительно других жвачных (рис. 3.1) и попадание в одну кладу верблюдовых и приматов относительно жвачных (рис. 3.3.). Есть подозрение, что при построении филогении не была взята внешняя группа и дерево неправильно укоренено. Филогенетический анализ не описан в главе «методы». В результате не понятно, какой именно тип анализа использовали, и деревья не имеют смысла без указания статистической поддержки.

Фрагмент текста из пяти предложений на стр. 50 полностью дублируется на странице 55.

Небольшие недостатки:

В Главе 1 два раздела - «Аспарагиновые протеазы» и «Химозин» - представлены как равнозначные, хотя химозин – это одна из аспарагиновых протеаз.

Названия семейств следует писать со строчной буквы (оленьевые), как и видовые названия на латыни (*C. canadensis*).

Необходимо применять единообразие в обозначении десятичного разделителя – в работе он обозначен как точкой, так и запятой (например, на стр. 9).

На стр. 11 и в автореферате указано, что в работе использовано 22 рисунка, хотя их 31.

Стр. 13 «Сам термин «фермент» происходит от греческого /ἔνζυμον/ «дрожжевой или в дрожжах»». Здесь описано происхождение слова «энзим», слово фермент происходит от латинского «fermentum».

Стр. 44 «Гомология первичной и третичной структуры химозинов этих видов составляет 95 и 85% соответственно.» Необходимо пояснить, что именно понимается под «гомологией третичной структуры».

Описание условий ПЦР в главе 2.2.2 содержит одну температуру отжига, что удивительно, учитывая многообразие использованных в работе праймеров.

Стр. 67 концентрация 0.078125 мкМ указана с завышенной точностью.

На рис. 1.10 изображены две совершенно идентичные третичные структуры химозина верблюда и коровы. Либо нужно указать на конкретный участок, который у этих видов отличается, либо достаточно привести одну структуру и указать, что она общая для этих двух видов.

Следует заметить, что выявленные недостатки не умаляют научно-практической значимости диссертационной работы.

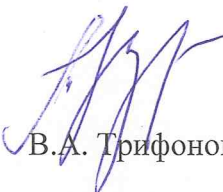
### **Заключение**

Проведенная научная экспертиза диссертации, автореферата и списка опубликованных работ БЕЛЕНЬКОЙ Светланы Валерьевны «Свойства рекомбинантного химозина алтайского марала (*Cervus canadensis sibiricus*)», представленных на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология, даёт основание положительно оценить рецензируемое исследование с точки зрения актуальности, степени обоснованности научных положений и выводов, степени их достоверности и новизны. Основные идеи исследования ясно выражены, выводы соответствуют полученным данным, а результаты раскрыты достаточно подробно для

свободного прочтения специалистом широкого профиля. Значительная часть работы опубликована в журналах и обсуждена на научных конференциях. Представленная работа по своей актуальности, научной новизне, теоретической значимости результатов полностью отвечает требованиям «Положения о присуждении научных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Беленькая С.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3 – молекулярная биология.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден на семинаре Отдела разнообразия и эволюции геномов от 29 сентября 2021 г., протокол № 85.

Заведующий лабораторией сравнительной геномики  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН,  
д.б.н.



В.А. Трифонов

22 ноября 2021 г.

ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Пр. Ак. Лаврентьева 8/2

630090 Новосибирск

Тел: 363-90-41

<https://www.mcb.nsc.ru/mcb>

Специальность лица, утвердившего отзыв (д.б.н. Демакова С.А.), – 03.02.07 - генетика.

