

Отзыв

на автореферат диссертации Старикова Александра Юрьевича
«Изучение субстратной специфичности десатураз жирных кислот цианобактерий»,
представленной на соискание
ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.21 — Физиология и биохимия растений.

Цианобактерии — первые окислительные микроорганизмы на Земле, играющие крайне важную роль в поддержании кислородной атмосферы и фиксации углекислого газа. Помимо их важной экологической роли, они обладают огромным биотехнологическим потенциалом. Они используются как источник пищи (*Arthrospira platensis*), как продуценты водорода, а также как источник биомассы для последующей переработки в ряд биотоплив третьего поколения (биогаз, биодизель, биоэтанол).

Масла, являющиеся запасными веществами у водорослей и цианобактерий, можно использовать для производства биодизельного топлива - метиловых эфиров жирных кислот). Эти вещества безвредны для окружающей среды, хорошо смазывают детали двигателя, а по личному опыту знакомых мне водителей, они повышают приёмистость двигателя (способность быстро менять мощность). Помимо топлива для дизельных двигателей, эти вещества могут применяться и как смазочные материалы или сырьё для их производства, как гидравлические жидкости, что делает их производство полезным для народного хозяйства. При этом имеется достаточно чёткая корреляция между степенью насыщенности жирных кислот и такими параметрами, как температура мутнения/застывания биодизельного топлива и цетановое число. Насыщенный биодизель обладает плюсовыми температурами застывания и высоким цетановым числом; ненасыщенный – более низкими температурами застывания и низким цетановым числом. Кроме того, техническое масло цианобактерий в случае большого содержания ненасыщенных жирных кислот можно будет использовать в производстве олифы и сиккативов для лакокрасочной промышленности.

Десатуразы жирных кислот — это ферменты, превращающие насыщенные жирные кислоты в ненасыщенные. Они играют важную роль в функционировании растительной и цианобактериальной клетки, поскольку степень ненасыщенности липидов находится в прямой связи с текучестью мембраны, влияющей на трансмембранный перенос веществ через мембрану и латеральную миграцию белковых комплексов в мембране. Кроме того, именно от их активности зависит, будут ли запасные липиды клетки более или менее насыщенными.

Работа Александра Юрьевича Старикова посвящена исследованию десатураз жирных кислот у *Synechococcus elongatus* PCC7942. Исследовались десатуразы $\Delta 6$ (DesD), $\Delta 9$ (DesC) и $\Delta 12$ (DesA) — это ферменты, вносящие двойную связь через соответствующее число атомов от карбоксильного конца ацильного остатка. Гены этих ферментов амплифицировались с геномной ДНК ряда цианобактерий - *Synechocystis* sp. PCC 6803 (разновидность штамма GT — Glucose Tolerant), *Gloeobacter violaceus* PCC 7421, *Synechococcus elongatus* PCC 7942, *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200. Для экспрессии генов в геноме *Synechococcus elongatus* PCC 7942 использовались векторы pTrc99A и pNS2, которые, судя по автореферату, применялись для интеграции целевых генов в геном, при этом некая нейтральная последовательность была взята в качестве флангов для гомологичной рекомбинации.

Культуры цианобактерий выращивались не только на минимальной среде, но и в присутствии жирных кислот, не характерных для цианобактериальных липидов, что позволило определить специфичность внесения двойной связи десатуразами.

В работе отмечено и наглядно показано, что для точного картирования двойных связей в диеновых жирных кислотах предпочтительно использовать не метиловые эфиры, а диметилноксазолиновые и никотиниловые производные. Это очень полезный момент для всех

экспериментаторов, интересующихся определением липидного состава методом масс-спектрометрии.

Автором показаны следующие важные свойства десатураз жирных кислот:

1) Десатураза $\Delta 12$ (DesA) нуждается в присутствии двойной связи в жирной кислоте и вносит следующую двойную связь при $n+3$ -ем атоме, где n -ый атом – тот, при котором уже находится двойная связь;

2) Десатураза $\Delta 6$ (DesD) всегда вносит двойную связь у шестого атома, вне зависимости от того, где находится уже имеющаяся связь;

3) Десатураза $\Delta 9$ (DesC) в сочетании с ацилтрансферазой PsIC повышает количество образующихся в клетках цианобактерии миристиновой и миристолеиновой кислот.

В целом можно отметить, что у *Synechococcus elongatus* PCC 7942 достаточно значительна доля насыщенных жирных кислот – около 50% от общего количества жирных кислот вообще.

Во время прочтения работы возникло желание поинтересоваться на предмет следующих моментов:

1) Какова доля липидов (как гликолипидов вроде МГДГ, так и, в частности, триглицеридов) от сухой и сырой массы исследуемой цианобактерии?

2) Можно ли за счёт десатураз $\Delta 6$ и $\Delta 9$ под более сильными промоторами снизить количество насыщенных жирных кислот у цианобактерий до 20-30% и менее? Или же содержание насыщенных жирных кислот в пределах 50% - неотъемлемое свойство цианобактериальных мембран?

3) В чём молекулярный механизм показанных автором различий десатураз $\Delta 9$ из *S. elongatus* и *Cyanobacterium sp.* IPPAS B-1200? Как он может быть связан с различиями их первичной и третичной структур?

Вышесказанное не снижает общего хорошего впечатления от работы, которая выполнена на высоком уровне. Насколько можно судить по автореферату, по своей актуальности, научной новизне, практической значимости, достоверности результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Старикова Александра Юрьевича «Изучение субстратной специфичности десатураз жирных кислот цианобактерий» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, отвечающую всем требованиям, установленным в Положении о присуждении ученых степеней в ВАК. Автор работы, Стариков А.Ю., заслуживает присуждения ему искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21 – Физиология и биохимия растений.

15.05.2023

Кандидат биологических наук
по специальности 03.01.04 - Биохимия,

Абуллаатыпов Азат Вадимович

Научный сотрудник лаборатории фотосинтетического электронного транспорта
Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук,
обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Федерального исследовательского центра "Пушкинский научный центр
биологических исследований РАН"

Адрес: 142290, Московская обл., г. Пушкино, ул. Институтская, д. 2
Тел.: +7(925)172-37-51
E-mail: azatik888@yandex.ru

Подпись Абуллаатыпова А.В. заверяю:

