



Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
**ИНСТИТУТ БИОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук  
(ИБХ РАН)

ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997. Для телеграмм: Москва В-437, Биоорганика  
телефон: (495) 335-01-00 (канц.), факс: (495) 335-08-12, E-mail: [office@ibch.ru](mailto:office@ibch.ru), [www.ibch.ru](http://www.ibch.ru)  
ОКПО 02699487 ОГРН 1037739009110 ИНН/КПП 7728045419/772801001

№ \_\_\_\_\_  
на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

«Отзыв заверяю»

Ученый Секретарь ИБХ РАН  
д.ф.м.н. В.А. Олейников



**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".

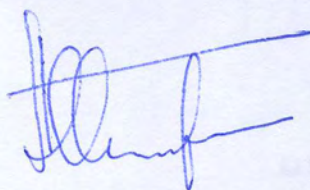
Объектом исследований диссертационной работы Захаровой Г.С. является анионная пероксидаза табака (КФ 1.11.1.7) – гем-содержащий фермент, относящийся к III классу суперсемейства пероксидаз растительного и грибного происхождения. Среди ферментов, входящих в данный класс пероксидаз, наиболее изученным является изофермент С пероксидазы из корней хрена. Этот фермент широко применяется на практике, в первую очередь в биоаналитических целях (в качестве метки для иммуноанализа, как компонент биосенсоров и т.д.). Пероксидаза табака превосходит пероксидазу хрена по многим параметрам, однако практическое применение фермента напрямую зависит от возможности получать его в больших количествах. Одним из подходов к повышению эффективности и удешевлению продукции фермента является использование системы экспрессии в клетках *Escherichia coli*. Но, так как в этом случае пероксидазы экспрессируются в виде нерастворимых телец включения, получение их в активной форме затруднено из-за необходимости проведения рефолдинга. В своей работе Захаровой Г.С. удалось значительно повысить выход рекомбинантной пероксидазы табака за счет оптимизации условий рефолдинга фермента из телец включения. Было также показано, что использованный для рефолдинга метод разведения в 3 раза эффективнее метода, основанном на гель-фильтрационной хроматографии. В результате эффективность рефолдинга рекомбинантной пероксидазы табака при оптимизированных условиях по сравнению с ранее достигнутыми величинами возросла более чем в 6 раз и составила около 85 %. Данный результат является одним из самых высоких для реактивации рекомбинантных белков из телец включения из описанных в литературе.

Вторая часть диссертационной работы Захаровой Г.С. посвящена изучению применения анионной пероксидазы табака в качестве компонента биоаналитических систем: ферментной метки для иммуноанализа и компонента безреагентных биосенсоров. В первом случае было показано, что при детекции ферментной метки по хемиллюминесценции интенсивность сигнала при использовании конъюгатов антител с рекомбинантной пероксидазой табака на два порядка выше по сравнению с пероксидазой хрена. В случае безреагентного биосенсора было изучено влияния способа иммобилизации пероксидазы табака на его характеристики. Выявлено, что химическая иммобилизация рекомбинантной пероксидазы табака на поверхности графитового электрода с использованием карбодимидного метода по сравнению с физической адсорбцией фермента приводит к улучшению характеристик биосенсора. Показано, что ключевую роль в стабилизации пероксидазы табака при химической иммобилизации путём совместной инкубации со сшивающими агентами играет образование внутри- и межмолекулярных ковалентных сшивок.

Несущественным замечанием, скорее пожеланием, является представление расшифровки аббревиатур TOR и HRP C в самом начале для лучшего понимания сходства и различия данных двух ферментов

Представленные в автореферате материалы позволяют заключить, что диссертационная работа Г.С. Захаровой выполнена на высоком научном и экспериментальном уровнях и является законченным самостоятельным научным исследованием. Она написана ясным и четким научным языком, данные экспериментов оформлены аккуратно и наглядно. Результаты работы представлены в рецензируемых зарубежных и отечественных журналах, индексируемых в базе Web of Science, в двух из них Захарова Г.С. является первым автором, что особенно важно. По уровню проведенных исследований, актуальности, научной новизне и практической значимости работа соответствует всем требованиям, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор, Захарова Г.С. безусловно заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальностям "03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)" и "03.01.04 – биохимия".

Заведующий Лабораторией клеточной биологии рецепторов ИБХ РАН  
докт. хим. наук



Петренко А.Г.

petrenkoag@gmail.com