

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Трубицина Ивана Васильевича на тему:
«Диссимиляционная нитратредукция у представителей серобактерий рода
Thiothrix: очистка и характеристика респираторной нитратредуктазы,
скрининг генов, участвующих в процессах денитрификации»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Исследование особенности метаболизма у представителей серобактерий рода *Thiothrix*, в частности способности к активному росту в бескислородных условиях с использованием нитрата в качестве терминального акцептора электронов, было поставлено Трубициным И. В. в качестве основной цели диссертационной работы. Процесс восстановления нитрата до нитрита был изучен с использованием различных методов и подходов. Во-первых, была исследована динамика восстановления нитратов при анаэробном культивировании с использованием методов химического анализа. Во-вторых, проведена очистка респираторной нитратредуктазы, исследованы физико-химические свойства и кинетические характеристики фермента. В-третьих, с использованием методов молекулярной генетики оценен уровень экспрессии нитратредуктазы у представителей рода *Thiothrix*, культивируемых в аэробных и анаэробных условиях. Также проведена идентификация наличия структурного гена *narG*, кодирующего α -субъединицу респираторной нитратредуктазы.

Помимо исследования процесса восстановления нитрата, автором проведён скрининг генов, кодирующих ферменты, осуществляющие последующие стадии процесса денитрификации. Так, были идентифицированы гены *nirS* и *cnorB* кодирующие NO_2^- - и NO -редуктазы, соответственно.

Полученные последовательности фрагментов генов *narG*, *nirS* и *cnorB* легли в основу создания филогенетических деревьев, в которых чётко выражена кластеризация представителей рода *Thiothrix* с другими представителями семейства гамма-протеобактерий (в случае генов *narG*, *nirS*) или с представителями семейства бета-протеобактерий (*cnorB*). Последнее может говорить о наличии процесса горизонтального переноса гена *cnorB* перед отделением современных видов от общего предка.

К недостаткам данной работы можно отнести неполную физико-химическую характеристику белка. Так, автором не исследована рН-стабильность нитратредуктазы, не изучено влияние ионов металлов, а также стабилизаторов и детергентов на активность фермента. К тому же использование способа определения величин K_m и V_{max} по графику

Лайнуивера-Берка «вручную» является в настоящее время неточным и может давать определённую погрешность в измерении. На будущее автору рекомендуется использовать специально разработанные программы, например SigmaPlot, предназначенные для вычисления кинетических констант.

Несмотря на указанные недочёты, работа, выполненная И.В. Трубициным, полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присуждения ему степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 «биохимия».

К.б.н., старший научный сотрудник
лаборатории молекулярной микробиологии
ФГБУН «Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН»
Московская область, г.Пушино, пр-т Науки, д.5
Тел. 8(4967)318678
zemskovam@mail.ru

Захарова Марина Викторовна

