

## 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

Способность к анаэробному дыханию у микроорганизмов распространена довольно широко, однако изучение этого процесса затруднено вследствие сложностей, связанных с условиями культивирования этих организмов, а также выделением и очисткой ферментов, катализирующих начальные реакции нитратредукции. Выбор в качестве объекта исследования серобактерий р. *Thiothrix*, способных к не описанному у них ранее анаэробному дыханию в присутствии нитратов, является весьма актуальным. И.В. Трубицин взял на себя определенную смелость, поставив одной из основных задач диссертации выделение, очистку и изучение свойств респираторной нитратредуктазы, катализирующей начальную реакцию денитрификации, при отсутствии каких-либо данных по этому вопросу в отечественной и зарубежной литературе.

Применение современных микробиологических, биохимических и молекулярно-биологических методов позволило решить поставленные в работе вопросы. Автором была разработана специальная двухступенчатая схема культивирования изучаемого организма в ферментере в аэробных условиях для накопления биомассы с последующим переводением культуры в анаэробный режим для индукции нитратредуктазы. Очистка фермента методами колоночной хроматографии и препаративного электрофореза позволила получить электрофоретически гомогенный препарат с высокой степенью очистки 78.3 и удельной активностью 97.75 Е мг г<sup>-1</sup>. Определены основные характеристики нитратредуктазы – молекулярная масса, термостабильность, температурный и рН оптимумы активности, кинетические параметры по нитрату  $K_m$  и  $V_{max}$ , подобраны специфичные ингибиторы, а также оптимальный донор электронов.

Несомненным достоинством работы является тот факт, что был изучен детально не только начальный этап денитрификации, но и путем микробиологических и химических

методов анализа установлено наличие нитрит-, NO- и N<sub>2</sub>O-редукции у бактерий рода *Thiothrix*.

По результатам филогенетического анализа аминокислотных последовательностей субъединиц NarG, NirS и CnorB были построены филогенетические деревья. Эти данные дали основание полагать, ген *cnorB* был подвергнут горизонтальному переносу перед разделением современных видов рода *Thiothrix* от последнего общего предка, тогда как гены *narG* и *nirS* первоначально представлены в геноме этого организма.

Полученные автором данные свидетельствуют о высоком уровне исследований, позволившем решить поставленные в диссертации задачи с глубокой степенью понимания их значимости, научной новизны и практической ценности. Выполненная И.В. Трубициным работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присуждения ему степени кандидата биологических наук по специальности «биохимия».

К.б.н., старший научный сотрудник  
лаборатории микробной энзимологии  
ФГБУН «Институт биохимии и физиологии  
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН»  
Московская область, г.Пушино, пр-т Науки, д.5  
Тел. 8(4967)318576  
ermakova@ibpm.pushchino.ru

Ермакова Инна Тихоновна

05.12.2014

