Отзыв

на диссертационную работу

СМЕКЕНОВА ИЗАТА ТЕМИРГАЛИЕВИЧА

«Клонирование и оптимизация экспрессии генов целлюлаз в промышленных штаммах *Saccharomyces cerevisiae*»,

представленную на соискание степени доктор философии (PhD) по специальности «6D070100 - Биотехнология»

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами

В настоящее время альтернативным и распространённым источником энергии является жидкое биотопливо – биоэтанол. Биоэтанол является возобновляемым источникам энергии, получаемого из растительного сырья. США и Бразилия являются ведущими странами в биотехнологическом производстве этанола. Они в качестве сырья и источников сахаров используют сахарный тростник или сахарную свеклу, кукурузу и другие продовольственные культуры. Но данная стратегия в условиях угрозы мирового продовольственного кризиса неприемлема, поскольку может привести к еще большему нарастанию дефицита продовольствия и нерациональному использованию сельскохозяйственных угодий. Использование возобновляемой биомассы целых растений, как травянистых, так и деревьев, включая отходы сельского хозяйства (соломы пшеницы, риса, и др.) позволяет снизить цену биоэтанола, тем самым составляя ценовую конкуренцию нефтепродуктам. Например, биоэтанол уже широко используется в качестве добавки к бензину в западных странах мира. Показано, что биоэтанол при сжигании выделяет гораздо меньше загрязняющих веществ в окружающую среду, чем обычный бензин и поэтому считается экологически чистым топливом. К тому же Республика Казахстан наряду со значительными запасами ископаемого органического топлива обладает обширными запасами возобновляемых ресурсов и источников энергии (например, солома зерновых культур), что делает производство этанола актуальным.

Основная проблема в производстве промышленного этанола, в настоящее время является отсутствие известного природного микроорганизма, способного одновременно гидролизовать биомассу и ферментировать образующиеся сахара в биоэтанол.

Считаю, что тема и сама диссертационная работа Смекенова И.Т. посвященная созданию промышленных штаммов дрожжей, способных эффективно гидролизовать целлюлозу и ферментировать образующиеся сахара в этанол, с помощью технологий рекомбинантных ДНК и методов клонирования генов является актуальной.

Диссертационная работа Смекенова И.Т. выполнена в рамках научных проектов 0144/ГФ «Создание рекомбинантных штаммов микроорганизмов, эффективно экспрессирующие гены целлюлаз для получения биотоплива из

целлюлозсодержащего сырья» и 1324/ГФ «Разработка технологии получения биоэтанола из целлюлозного сырья с помощью генетически модифицированных промышленных штаммов дрожжей» Министерства образования и науки Республики Казахстан.

2. Научные результаты и их обоснованность

Целью диссертационной работы было создание рекомбинантных промышленных штаммов дрожжей, содержащих введенные гены, кодирующие экзо-1,4-β-глюканазы, эндо-1,4-β-глюканазу, 1,4-β-глюкозидазу и мембранный переносчик целлодекстринов, для эффективного сбраживания целлюлозы в этанол. Для достижения поставленной цели было сформулировано 7 задач исследования. Основные результаты исследовательской работы отражено на 63 страницах из всей диссертации, состоящей из 145 страниц. Полученные экспериментальные данные проиллюстрированы на 41 рисунке и 9 таблицах, что подтверждают достоверность и обоснованность научных результатов. Проведенные исследования обладают логическим единством и последовательностью изложения. Например, в начале сравнивалась экспрессия гетерологичных генов в эписомальном и интегративном экспрессионных векторных системах. Затем создавались рекомбинантные промышленные штаммы с использованием интегральных конструкций. Проверялась способность данных штаммом экспрессировать TaBGL1. Затем отбирался наиболее устойчевый штамм с высокой экспрессионной способностью и ферментативной активность. Далее на основании отобранного штамма создавался промышленный штамм дрожжей, способный эффективно гидролизовать целлюлозу и ферментировать образующиеся сахара в этанол. По завершению исследовательской работы, было представлено большое количество экспериментальных данных, обладающих новизной, научной и практической значимостями. Полученные результаты хорошо интерпретированы и отражены в 22 печатных работах, в том числе 2 статьях в журналах с ненулевым импакт-фактором входящий в базу данных Web of Science или Scopus.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого научного результата (научного положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации

В выводах представлены основные результаты исследования, полученные в соответствии с поставленной целью и задачами диссертационной работы. Научные результаты являются достоверными, достоверность которых подтверждается использованием современных методов генной инженерии, биохимии и микробиологии, а также статистической обработки, представленных в таблицах. Сформулированные результаты в соответствии с поставленными задачами исследования, подтвержденные рисунками и графиками, являются логически

обоснованными. Все выводы по результатам исследований сформулированы правильно, понятно и кратко.

4. Степень новизны каждого научного результата (положения), выводов соискателя, сформулированных в диссертации

Результаты и выводы диссертационной работы выносятся на публичную защиту впервые. Все полученные в работе экспериментальные данные обладают научной новизной. На основании промышленных штаммы *S. cerevisiae* ATCC 24860, YB-2625, Y-1528 и Y-2034-TaBgl1 были созданы рекомбинантные штаммы дрожжей с генами 1,4-β-глюкозидазы гриба *T. aurantiacus*, мембранного переносчика целлодекстринов гриба *N. Crassa*, эндо-1,4-β-глюканазы гриба *A. Niger* и генами экзо-1,4-β-глюканазы гриба *L. edodes*. Показаны способности рекомбинантных штаммов расти в среде с целлобиозой или целлюлозным субстратом (авицел или предобработанная солома).

В целом полученные в диссертационной работе результаты имеют огромное научное значение в области биотехнологии.

5. Практическая и теоретическая значимость научных результатов

Теоретическая значимость полученных результатов позволяют изучить характер экспрессии термостабильных целлюлазных генов в дрожжевых системах и процессы гликозилирования целлюлаз. Сравнение промышленно значимых характеристик, таких как скорость роста, устойчивость к высоким температурам, концентрациям этанола, ингибирующим соединениям, обычно встречающиеся в гидролизатах лигноцеллюлозы, также имеют теоретическую значимость в понимании влияния генотипов штаммов на стрессоустойчивость. Практическая значимость работы заключается в использовании сконструированных рекомбинантных промышленных штаммов дрожжей, стабильно экспрессирующих гены целлюлаз, обладающих промышленно значимыми характеристиками, для производства 2G биоэтанола из возобновляемых источников целлюлозы, а также сельскохозяйственных отходов.

6. Замечания, предложения по диссертации

Замечания по диссертационной работе:

- Таблицы 2 и 3, разделенные на части, не имеют дупликацию заголовков столбцов (стр 48-50).

- Пояснения к рисунку 18 даны сверху рисунка, должны быть снизу рисунка перед названием рисунка.

- в разделе МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, подробно описываются общеизвестные методы, например, подготовка компетентных клеток *E. coli* и их трансформация. Целесообразно ссылаться на общепринятые методы и сократить описание;

Сделанные замечания не уменьшают ценности данной работы и не влияют на основные положения работы, выносимые на защиту.

7. Соответствие содержания диссертации в рамках требований Правил присуждения ученых степеней

Диссертация соответствует требованиям пп. 5, 6, 7 «Правил присуждения степеней». Диссертант сохранил основные принципы в выполнение диссертации, принципов самостоятельности и внутреннего единства, указал научную новизну и практическую ценность работы. Основные результаты диссертации опубликованы в 22 печатных работах, в том числе 2 статьи и 2 тезиса в журналах с ненулевым импакт-фактором входящий в базу данных Web of Science или Scopus, 6 статей в республиканских научных изданиях, рекомендуемых ККСОН МОН РК и 12 тезисов в материалах международных конференций. Дополнительно был получен 1 патент РК на полезную модель №2017/0230.2 «Интегративный плазмидный вектор для экспрессии генов в дрожжах».

Считаю, что диссертационная работа Смекенова И.Т., представленная на соискание степени доктор философии (PhD) по специальности «6D070100 - Биотехнология», может быть представлена для публичной защиты.

Официальный рецензент:
Ph.D, ВНС лаборатории
молекулярной биологии
РГП «Институт биологии и
биотехнологии растений» КН МОН РК Н.Н. Галиакпаров

ҚАДР БӨЛІМІ

Қолы куәландыру
№ 18.02.2020 ж.