

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу Зуевой Анастасии Олеговны «Изучение фукоиданаз морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup> и противоопухолевой активности продуктов ферментативного гидролиза фукоиданов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биорганическая химия**

Настоящая работа выполнена в области биорганической химии, в частности, посвящена определению структурных, биохимических и каталитических различий между несколькими фукоиданами 107 структурного семейства гликозидгидролаз, продуцируемыми морской бактерией *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup>, а также изучению потенциала применения данных ферментов для изучения структур фукоиданов и установления основных структурных характеристик ферментативно полученных гидролитических производных фукоиданов, ответственных за проявление ими противоопухолевой активности *in vitro*.

В связи с тем, что ведутся интенсивные исследования по получению новых научных знаний о природных соединениях, которые могли бы проявлять противоопухолевые активности при применении их на практике, и при этом среди них весьма значимый интерес составляют фукоиданы, выделяемые из морских водорослей, структура которых изучается с использованием специфичных фукоиданаз, то **актуальность темы исследования** соискателя не вызывает сомнения. Всё это в целом формирует высокую **актуальность** сформулированной автором диссертации цели выполненного исследования.

**Значимость для науки и практики результатов, полученных автором,** складывается из совокупности новых теоретических результатов, имеющих фундаментальное значение, и тех результатов соискателя, которые имеют явно прикладное предназначение. В частности, **научная новизна исследования** Зуевой А.О. как показал анализ её работы, состоит в нескольких наиболее значимых результатах:

- выделены и охарактеризованы несколько новых ферментов, изучены их свойства, показана возможность получения новых гидролитических производных фукоидана;

- охарактеризованы новые низко- и высокомолекулярные производные фукоидана из бурых водорослей, полученные в результате их ферментативной обработки новыми ферментами из морской бактерии, противоопухолевое специфичное действие которых подтверждено в проведенных исследованиях с привлечением образцов клеток различных раковых опухолей.

В целом полученные соискателем научные результаты составляют новый этап развития знаний в области биоорганической химии фукоиданаз и могут служить основой для дальнейшего исследования их структуры и свойств и их направленной модификации.

**Практическая значимость** представленной диссертации состоит в том, что, во-первых, получены образцы новых ферментов, которые специфично катализируют гидролиз фукоидана, приводя к получению продуктов с определенными характеристиками, и давая возможность исследовать структуры исходных полисахаридов. Таким образом, получены новые инструменты для исследования химии полисахаридов. Во-вторых, получены образцы биологически активных веществ с противоопухолевыми эффектами. Таким образом, практическая значимость представленной работы **очевидна**.

**Содержание диссертации, ее завершенность.** Диссертация изложена на 172 страницах, содержит 7 таблиц и 49 рисунков. Список литературы включает 225 ссылок, расположенных в порядке цитирования их в основном тексте.

Диссертационная работа Зуевой А.О. состоит из введения, обзора литературы, результатов, их обсуждения, описания материалов и методов, использованных в исследованиях, выводов, заключения, списка цитируемой литературы и пяти приложений, размещенных на страницах 163-172 и включающих результаты анализа аминокислотных последовательностей разных фукоиданаз и степени их идентичности, а также результаты масс-спектрометрического исследования продуктов ферментативного гидролиза фукоиданов с помощью квадрупольно-времяпролетного хроматомасс-спектрометрии высокого разрешения с ионизацией электрораспылением.

Во введении диссертантом сформулированы актуальность задач, на решение которых направлена данная диссертационная работа, и основная цель научного исследования. Здесь же определена научная новизна результатов проведенных

исследований, практическая значимость работы, перечислены научные форумы, на которых многократно прошли апробацию и были популяризированы результаты данной диссертационной работы.

Глава 1 содержит «Обзор литературы», проведенный соискателем с привлечением отечественной и зарубежной научной литературы. Достаточно подробно рассмотрены общие сведения о фукоиданазах, их свойствах и, в частности, их субстратной специфичности действия. Собранные в этой главе информация также даёт общие представления о фукоиданах, а также о противоопухолевой и канцеропревентивной активности продуктов их ферментативного гидролиза. Вся эта информация изложена в общей сложности на 41 страницах текста.

Глава 2 названа соискателем «Результаты и их обсуждение», представлена на 63 страницах. Значительная часть информации, которая представлена в этом разделе диссертации, отражает основные эксперименты, выполненные Зуевой А.О., полученные при этом результаты и их анализ. В связи с этим анализом статьи самого соискателя включены в список цитируемой литературы наряду с другими известными публикациями по теме исследования.

Глава 3 содержит довольно подробное изложение (на стр.120-135) 30 методов исследований, связанных с конструированием генетических конструкций и получением рекомбинантных фукоиданаз, характеристикой их биохимических и каталитических свойств, исследованием свойств фукоиданов и их производных, полученных в результате ферментативного гидролиза, в отношении различных клеток, включая клетки рака.

Диссертационная работа Зуевой А.О. производит исключительно положительное впечатление. Она представляет собой целостное, многостороннее и междисциплинарное, объемное исследование, выполнение которого характеризует её автора как высоко квалифицированного специалиста в области биоорганической химии и энзимологии, способного комбинировать проведение исследований в области микробиологии, биохимии, биоинформатики, аналитической химии, биокатализа и медицинской химии. Работа написана очень хорошим и грамотным научным языком с логичным и последовательным изложением основных этапов развития работы. Хорошо обсуждены получаемые результаты, при этом в обсуждение вплетены известные из литературы данные.

Немного странным показалось мне наличие обобщающего заключения по всей работе в тексте диссертации после сделанных основных выводов, а не перед ними, так, как это представлено в автореферате работы, но это обобщение в принципе очень и очень в работе уместно, поскольку объемно суммирует новизну и практическую значимость полученных результатов. Я только приветствую такие обобщения.

Следует отметить, что автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, отражает основные результаты в очень хорошо представленном виде. В нём представлены основные публикации автора диссертационной работы, среди которых 3 статьи в высокорейтинговых журналах, относящихся к Q1-квартилю, и имеющих высокий импакт-фактор. Такие публикации свидетельствуют о высоком уровне исполнения работы и признания её результатов экспертами-рецензентами на международном уровне.

Анализ представленных результатов в целом свидетельствует о том, что эти результаты достоверные, а выводы, сделанные автором, подтверждаются множественными экспериментальными данными, представленными соискателем в её диссертации и в статьях, опубликованных в журналах, рекомендованных ВАК для публикации работ соискателей учёных степеней кандидатов наук. Восхищает разнообразие различных современных методов исследования, которые были привлечены к выполнению исследований в этой диссертационной работе и позволили получить интересные результаты.

Представленные в диссертационной работе Зуевой А.О. ссылки на литературные источники, использованные при подготовке обсуждения результатов, свидетельствуют о том, что порядка 22% из них были опубликованы за период 2020-2023 гг, то есть автор диссертации хорошо осведомлен о современном состоянии исследований в данной области. Большая часть (65%) обсуждаемой в тексте литературы относится к периоду 2000-2019 г, что свидетельствует о фундаментальной подготовке автора к выполнению представленной работы и обсуждению её результатов.

В качестве замечаний по работе Зуевой А.О. можно отметить следующее:

- в разделе 1.1.6, посвященному анализу специфичности действия фукоиданаз, представлен довольно большой объем, как мне показалось, излишней и довольно

подробной информации по фукоиданазам из различных моллюсков. Поскольку источником получения исследованных в работе фукоиданаз были клетки бактерий, то можно было ограничиться сравнительным анализом именно бактериальных источников этих ферментов;

- раздел 1.1.4.4, содержащий информацию о биологической активности фукоиданов, лучше было бы совместить с разделом 1.2, при этом материал, представленный в разделе 1.2, описывающий на 7 страницах фукоиданы и продукты их деполимеризации, которые могут обладать значительным химиофилактическим потенциалом, лучше было бы представить, хотя бы частично, в виде таблицы вместо информационно насыщенного повествовательного текста;

- результаты, демонстрирующие ингибирующую активность фукоидана FeF и его производных по отношению к различным линиям раковых клеток, очень позитивны, однако концентрация в 200 мкг/мл, использованная автором в данной работе, представляется огромной для её потенциального применения, и требуется её снижение, возможно за счет комбинирования полученных ферментативным гидролизом низкомолекулярных производных фукоидана с другими противоопухолевыми препаратами. Но это скорее замечание-пожелание для дальнейшего развития результатов данной работы.

Все сделанные замечания не носят принципиального характера, касаются только оформления и подачи автором научной информации в диссертации, и поэтому несколько не умоляют её безусловных достоинств. Работа очень достойная, качественная, информационно и результативно насыщенная, современная, актуальная и очень аккуратно оформлена.

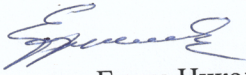
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Зуевой А.О. как по объему выполненной работы, так и по новизне и значимости полученных результатов, представляет собой завершённое фундаментально-прикладное исследование новых рекомбинантных фукоиданаз, полученных методами молекулярной биологии и генной инженерии на основе установленного генома ранее неизученного продуцента – морской бактерии *W. fucanilytica* CZ1127<sup>T</sup>. Исследование выполнено на высоком научном и

экспериментальном уровне и отвечает всем требованиям п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., № 842 (с учетом всех редакций), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достойна присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биорганическая химия.

Официальный оппонент

Заведующая лабораторией  
экобиокатализа  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
«Московский государственный  
университет имени М.В. Ломоносова»,  
Доктор биологических наук (03.01.06 -  
биотехнология (в том числе  
бионанотехнологии), профессор

  
Ефременко Елена Николаевна

E-mail: elena\_efremenko@list.ru  
Тел.: +7(495)9393170  
119991, г. Москва, Ленинские горы, д.  
1, строение 3  
Федеральное государственное  
бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Московский государственный  
университет имени М.В. Ломоносова»  
28 ноября 2023 г.

И.О. декана Химического  
факультета МГУ имени М.В.  
Ломоносова,  
доктор химических наук,  
профессор РАН



  
Карлов Сергей Сергеевич