

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Садыковой Айгуль Жомартовны «Генетические основы селекции ферментационных дрожжей *Saccharomyces* и *Kluveromyces*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика

Объекты исследования – дрожжи родов *Saccharomyces* и *Kluveromyces* – в высшей степени актуальны, так как широко используются во многих отраслях промышленности – от хлебопечения, виноделия и производства кисломолочных продуктов до производства спирта и белково-витаминных препаратов. Относительно простой жизненный цикл дрожжей-сахаромицетов, возможность культивировать как гаплоидные, так и диплоидные особи в лаборатории, простота в манипуляциях сделали их универсальными модельными генетическими объектами. Именно на примере уникального объекта *Saccharomyces cerevisiae* были изучены механизмы регуляции клеточного цикла, которые универсальны и присущи всем эукариотам; изучен кассетный механизм переключения пола и феромонорецепторный путь узнавания половых партнеров в скрещиваниях, обнаружены первые ретротранспозоны у эукариот. Практическое применение дрожжей-сахаромицетов также всестороннее и всеобъемлюще. Помимо традиционного применения в пищевой промышленности наблюдается растущий интерес к использованию ферментационных дрожжей *Saccharomyces* и *Kluveromyces* в процессах биотехнологического получения этанола из возобновляемого растительного сырья, а также лигноцеллюлозных отходов сельского хозяйства и деревоперерабатывающей промышленности. Поэтому решаемая в диссертации задача изучения физиологических особенностей спиртовых дрожжей *S.cerevisiae* и отбор термоустойчивых штаммов с высокой ферментационной активностью актуальна и своевременна. Цель исследования, направленная на изучение молекулярного полиморфизма дрожжей также актуальна, поскольку обусловлена таксономическими

проблемами в определении и дифференциации видов дрожжей и в определении их филогенетического положения.

Научная новизна работы Садыковой А.Ж. состоит в разработке эффективного экспресс-метода молекулярной идентификации фенотипически трудно различимых молочных дрожжей *Kluyveromyces lactis* и *Kl. marxianus*. Предложенный метод, основанный на рестрикционном анализе ITS1-5.8S-ITS2 последовательности кластера генов рРНК и известный как «бар-кодинг», широко применяется в микологии. В работе проведено молекулярное кариотипирование и филогенетический анализ β -фруктозидазных и мальтазных генов SUC и MAL дрожжей рода *Saccharomyces*. Большой объем экспериментальной работы посвящен практическим аспектам, связанным с анализом ферментационной активности отечественных штаммов *S.cerevisiae* и селекцией термоустойчивых продуцентов.

Диссертационная работа изложена на 150 страницах, иллюстрирована 26 рисунками и 4 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, включающей описание материалов и методов, результатов и их обсуждения, а также заключения и выводов; список цитируемой литературы включает 294 источника, 226 из которых – на английском языке.

Обзор литературы демонстрирует хорошую осведомлённость автора в изучаемых ею проблемах. Автор подробно описала историю изучения таксономии спиртовых и молочных дрожжей – родов *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*. Отдельная глава посвящена описанию семейств генов, участвующих в ферментации сахаров (SUC, MAL и MEL), а также возможных путей их амплификации и эволюции. Однако, говоря о таксономии и современной классификации изучаемых родов дрожжей, было бы уместно привести таксономическое положение этих родов в общей системе царства грибов.

Глава 4 **Материалы и методы** изложена последовательно и корректно. В качестве замечания хочу отметить, что неплохо было бы привести авторскую ссылку на «весовой метод определения скорости сбраживания сахаров по количеству выделяемого углекислого газа» (раздел 4.2.2), так как только эта методика применяется для опередения ферментационной активности штаммов дрожжей.

Селекция новых высокопродуктивных штаммов как спиртовых, так и молочных дрожжей и их внедрение в практику позволит решить многие биотехнологические задачи эффективной переработки лигноцеллюзных отходов, получения биоэтанола из растительного сырья, а также улучшения качества продуктов питания. Несомненной заслугой работы является всесторонний анализ физиологической и ферментационной активности и молекулярное кариотипирование 36 спиртовых штаммов *S.cerevisiae* отечественного производства, а также получение термоустойчивых межштаммовых гибридов с высокой ферментационной активностью и способностью сбраживать сахара.

Теоретический интерес представляет часть работы, посвященная определению хромосомной локализации многокопийных генов β -фруктозидаз SUC в геномах дрожжей рода *Saccharomyces*, их нуклеотидного полиморфизма, а также возможных путей их эволюции в ходе доместикации дрожжей. Дрожжи рода *Kluyveromyces* – менее изученная группа организмов, хотя, как показано в диссертации, их потенциал для практического использования в качестве пробиотиков для ферментации лактозы в молочных продуктах не вызывает сомнений. Садыковой А.Ж. было протестировано 56 штаммов *Kluyveromyces* на наличие ферментационной активности (ферментация лактозы) и термоустойчивость. Но что более важно, проведена молекулярно-генетическая диагностика и реидентификация этих штаммов молочных дрожжей, полученных из коллекции ВКМ, уточнена их видовая принадлежность и предложена тест-система молекулярной идентификации.

В целом название диссертационной работы вполне отражает ее суть и содержание. Представленный автореферат отражает основные положения диссертации.

Выводы и рекомендации вполне корректны и отражают представленные в работе результаты. В то же время имеются некоторые замечания.

1. Рисунки 11, 12, 14, 24 (стр. 76, 79, 82, 106), оценивающие интенсивность брожения ... и ферментационную активность ... штаммов дрожжей.

Было бы неплохо указать доверительные интервалы на гистограммах; в тексте диссертации также нет упоминания о статистической обработке результатов соответствующих экспериментов (по двум повторностям).

2. Имеются незначительные погрешности в цитировании литературы.

Автор не придерживается единой схемы в написании названий журналов. Например, журнал Доклады академии наук СССР сокращаются как «ДАН», «Докл. АН ССР», «Док. АН»; журнал Молекулярная биология – автор пишет название или полностью, или с сокращением «Молекуляр. биология»; журнал Общая биология – то же, и др.

Однако, сделанные замечания не снижают научной ценности диссертационной работы. В целом следует отметить, что в работе приведен огромный фактический материал, изученный на современном уровне с использованием молекулярно-генетических и биоинформационных методов.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием достаточно апробированных методик исследования, широкой апробацией результатов эксперимента на научно-практических конференциях, использованием интернет-ресурсов и баз данных GenBank; публикацией научных статей в центральных российских периодических журналах, освещающих с достаточной полнотой содержание диссертации.

Таким образом, диссертационная работа Айгуль Жомартовны Садыковой «Генетические основы селекции ферментационных дрожжей *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*» является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи по разработке генетических основ селекции и генотипированию практически значимых аскомицетных дрожжей родов *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*. Представленная диссертационная работа соответствует требованиям ВАК Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Айгуль Жомартовна Садыкова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры микологии и альгологии

Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова,

доктор биологических наук

Алла Викторовна Шнырева

8 мая 2016 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Адрес: 119991, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр.12,

биологический факультет.

Тел: 495 9393970. E-mail: ashn@mail.ru

Список публикаций А.В. Шныревой по сходной с диссертацией тематике:

1. Шнырева А.А., **Шнырева А.В.** Филогенетический анализ видов рода *Pleurotus* // *Генетика*, 2015, том 51, № 2, с. 177-187.
2. Badalyan SM, **Shnyreva AV**, Iotti M., Zambonelli A. Genetic Resources and Mycelial Characteristics of Several Medicinal Polypore Mushrooms (Higher Basidiomycetes) // *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2015, Vol.17, № 4, P. 371-384.
3. Киреев Я.В., Коновалова О.П., Мюге Н.С., **Шнырева А.В.**, Бубнова Е.Н. Культуральные свойства и таксономическое положение изолятов *Helminthosporium*-подобных грибов из Белого моря // *Микробиология*, 2015, том 84, № 5, с. 582-594.
4. **Шнырева А.В.**, Ван Гринсвен Л.Д. Проапоптотическая и иммуномодулирующая активность экстрактов некоторых базидиальных грибов // *Микология и фитопатология*, 2014, т.48, вып.4, с. 254-262.
5. Roza Asilchanova, Sardarbek Abiev, **Shnyreva A.V.** Molecular Identification of Some Edible Mushrooms (Order: Agaricales) from Central and North-Eastern Kazakhstan // *Biology and Medicine Journal*, 2015, том 7, № 2, с. 1-7.
6. Громовых Т.И., Иванова И.Е., **Шнырева А.В.**, Барсегян Г.Г., Данильчук Т.Н., Левин А.В. Исследование токсических свойств штамма Ls-06 *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murril L. и оценка перспектив его использования // *Проблемы медицинской микологии*, 2013, том 15, № 4, с. 63-69.
7. Сиволапова А.Б., **Шнырева А.В.**, Сонненберг А., Барс И. ДНК-маркирование локусов некоторых количественных признаков съедобного культивируемого гриба *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm // *Генетика*, 2012, том 48, № 4, с. 465-472.
8. Шнырева А.А., Сиволапова А.Б., **Шнырева А.В.** Съедобные культивируемые грибы вешенки *Pleurotus sajor-caji* и *P. pulmonarius* сходны по морфологии, но являются самостоятельными репродуктивно изолированными видами // *Генетика*, 2012, том 48, № 11, с. 1260-1270.
9. **Shnyreva AV**, Song W., Van Griensven LJLD. Extracts of Medicinal Mushrooms *Agaricus bisporus* and *Phellinus linteus* Induce Proapoptotic Effects in the Human Leukemia Cell Line K562 // *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2010, том 12, № 2, с. 167-175.
10. Smith M., **Shnyreva A.**, Wood DA, Thurston CF. Tandem organization and highly disparate expression of the two laccase genes *lcc1* and *lcc2* in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* // *Microbiology* (United Kingdom), 1998, Vol. 144, № 4, с. 1063-1069