

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01

НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № _____

Дата защиты 23 апреля 2016 г. протокол № 20

О присуждении **Розанову Алексею Сергеевичу**

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биоразнообразие микробиологических геотермальных сообществ Прибайкалья и Камчатки - перспективных источников бактерий-продуцентов ферментов деструкции лигноцеллюлозы» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 21.04.2016, протокол № 14, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр.ак. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет Д 003.011.01 утвержден ВАК 15.01.2010 приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Розанов Алексей Сергеевич, 1982 года рождения, в 2005 году окончил «Новосибирский государственный университет», г. Новосибирск. Розанов Алексей Сергеевич окончил в 2008 г. очную аспирантуру при Институте цитологии и генетики Сибирского Отделения Российской академии наук. Приказом № 134 от 25.05.2016 г. был прикреплен к Федеральному государственному бюджетному научному учреждению «Федеральный

исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярных биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель: **Пельтек Сергей Евгеньевич** - кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярных биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

- 1) **Дегтярев Сергей Харитонович** - доктор биологических наук, профессор, зам. директора по науке, ООО «СибЭнзайм», г. Новосибирск
- 2) **Земская Тамара Ивановна** - доктор биологических наук, заведующий лабораторией микробиологии углеводов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологического института Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), г. Москва. В положительном заключении, подписанном с.н.с. лаборатории гипертермофильных микробных сообществ института микробиологии им. С.Н.

Виноградского ФИЦ “Биоинженерии” РАН И.В. Кубланов., и утвержденном директором Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН член-корреспондентом РАН В.О. Поповым, указано, что “диссертационная работа А.С. Розанова «Биоразнообразие микробиологических геотермальных сообществ Прибайкалья и Камчатки - перспективных источников бактерий-продуцентов ферментов деструкции лигноцеллюлозы», полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, по специальности – генетика, а ее автор безусловно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук, по специальности 03.02.07 – генетика.”

Соискатель имеет 57 опубликованных работ, из них по теме диссертации 15 работ, общим объемом 72 страницы, в том числе 9 статьи, опубликованные в научных рецензируемых изданиях 2 патента и 4 тезиса в материалах международных и Российских конференций.

Наиболее значительные статьи по теме диссертации:

1. **Rozanov, A. S.**, Bryanskaya, A. V., Malup, T. K., Meshcheryakova, I. A., Lazareva, E. V., Taran, O. P., Ivanisenko, T.V., Ivanisenko, V.A., Zhmodik, S.M., Kolchanov, N.A. & Peltek, S. E. Molecular analysis of the benthos microbial community in Zavarzin thermal spring (Uzon Caldera, Kamchatka, Russia) // BMC genomics – 2014 - 15(Suppl 12), S12.
2. **Rozanov Aleksei S.**, Sushentseva Natalya N., Malup Tatiana K., Goryachkovskaya Tatiana N., Demidova Elisaveta V., Meshcheriakova Irina A., Demidov Evgeniy A., Peltek Sergey E. Analysis of enzymes of the hemicellulose complex from *Geobacillus stearothermophilus* 22 VKPM B-11678 isolated from Garga hot spring, Russia // Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic - 2015 - 116, 159-165.
3. Bryanskaya, A., **Rozanov, A.**, Slynko, N., Shekhovtsov, S., & Peltek, S. *Geobacillus icigianus* sp. nov., a new thermophilic bacterium isolated

from Valley of Geysers, Kamchatka // International journal of systematic and evolutionary microbiology – 2014 - 65(3), 864-869.

На диссертацию и автореферат поступило 10 отзывов, все положительные.

Отзывы прислали:

1. Марданов А.В. – д.б.н., ведущий научный сотрудник центра “Биоинженерия” РАН, г. Москва
2. Булаевым А.Г. – к.б.н., и.о. заведующего лаборатории хемолитотрофных микроорганизмов ФГУ ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, г. Москва
3. Бельковой Н.Л. – с.н.с, лаборатории водной микробиологии ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск. “Насколько широко представлены в проанализированных микробных сообществах представители термофильных микроорганизмов *Geobacillus*, *Anoxybacillus* и *Thermoactinomyces*? Какие еще флотипы идентифицированные в исследованных природных сообществах, могут быть отнесены к потенциальным продуцентам ферментов деструкции лигноцеллюлозы?”
4. Франк Ю.А. - к.б.н., доцент кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института Томского государственного университета и Карначук О.В. - д.б.н., профессор заведующая кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института Томского государственного университета, г. Томск. “На защиту выносятся положение об описании нового вида *G. icigianus* при этом автор не приводит в тексте реферата никаких веских доказательств того что выделенный организм представляет новый вид бактерий. Следовало бы привести филогенетическое дерево. Было бы правильно также указать номера доступа к последовательности геномов новых штаммов в базах данных.”

5. Дегерменджи А.Г. - академиком РАН, д.ф-м.н. Институт Биофизики г. Красноярск.
6. Синицын А.П. - д.х.н., профессор, заведующий лаборатории Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва.
7. Жмудь Е.В. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории интродукции редких и исчезающих видов растений ФГБУН Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, г. Новосибирск.
8. Гладышев М.И. - д.б.н., профессор, заведующий лаборатории экспериментальной гидроэкологии и заместитель директора Института биофизики СО РАН. И Колмакова О.В. - к.б.н., н.с., лаборатории экспериментальной гидроэкологии Института биофизики СО РАН, г. Красноярск.
9. Ильичева Т.Н. - д.б.н., доцент заведующая лаборатории ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор" г. Кольцово.
10. Рогозин Д.Ю. - д.б.н., старший научный сотрудник Института биофизики СО РАН г. Красноярск.

На все замечания Розановым А.С. были даны убедительные ответы.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики и филогении микроорганизмов, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтам в нашей стране по изучению биоразнообразия микроорганизмов, энзимологии, генетики филогении микроорганизмов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований, **доказано**, что филогенетическое разнообразие микробных матов геотермальных источников Гаргинского (Прибайкалье) и Заварзина, расположенного в котловине вулкана Узон (Камчатка), является отражением метаболических взаимоотношений между членами этих микробных сообществ, обеспечивающих их длительное сосуществование.

Предложена гипотеза о том, что структура микробного мата источника Гаргинского определяется взаимодействием фотоавтотрофных и гетеротрофных микроорганизмов, которые формируют замкнутые метаболические циклы основных химических элементов – углерода, серы, азота и кислорода.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые, с использованием высокопроизводительных методов метагеномного секвенирования, **изучено** филогенетическое разнообразие микробных матов геотермальных источников вулканического (Заварзина) и невулканического (Гаргинского) происхождения.

Доказано, что основой микробных матов горячих источников в Прибайкалье являются цианобактерии, обеспечивающие первичную продукцию, а также протео- и актинобактерии. Особенностью видового состава самого высокотемпературного микробного сообщества этого источника является присутствие значительного числа гипертермофильных архей.

Доказано, что основу микробного сообщества источника Заварзина составляют матрикс образующие гетеротрофные бактерии типов *Caldiseria* и *Dictyoglomi*, а первичную продукцию и азотфиксацию обеспечивают бактерии типов *Aquificae* и *Nitrospirae*.

Доказано, что термофильная бактерия рода *Geobacillus* sp., выделенная из образцов донных отложений горячих источников Камчатки, является новым, ранее не известным видом, который описан в соответствии с современными

требованиями и депонирован в открытые коллекции культур микроорганизмов. Ей присвоено видовое название *G. icigianus*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что определены свойства ферментов ксилан-1,4- β -ксилозидазы и эндо-1,4- β -ксиланазы, гены которых были выявлены в геноме термофильных штаммов *Geobacillus stearothermophilus*, обнаруженных в донных отложениях горячих источников Прибайкалья и доказана перспективность применения этих ферментов для разрушения лигноцеллюлозной биомассы в присутствии ионных жидкостей.

Созданы продуценты рекомбинантных термостабильных ферментов, способных к разрушению связей гемицеллюлозы, эндо-1,4- β -ксиланазы (патент №2542486), ксилан-1,4- β -ксилозидазы, α -глюкуронидазы и α -L-арабинофуранозидазы, которые могут быть использованы при разработке комплексных ферментных препаратов для деструкции лигноцеллюлозы.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического профиля, изучающих вопросы микробного разнообразия экстремальных экосистем, а также работающих в области промышленной энзимологии.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы современные методы метагеномного анализа, позволившие исследовать филогенетическую структуру микробных сообществ, классические микробиологические и биохимические подходы, с помощью которых получены и описаны штаммы термофильных микроорганизмов и изучены свойства ферментов деструкции лигноцеллюлозы, а также методы генетической инженерии, с помощью которых созданы рекомбинантные продуценты выше описанных ферментов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила высокую воспроизводимость полученных результатов и наличие всех экспериментальных

контролей. В работе использованы методики, адекватные поставленным задачам, результаты экспериментальных этапов работы получены с использованием современного сертифицированного оборудования и могут быть использованы другими исследователями. Интерпретация результатов о филогенетическом разнообразии и структуре микробных матов геотермальных источников Прибайкалья и Камчатки, а также свойствах термостабильных ферментов деструкции лигноцеллюлозы, гены которых были выявлены в геномах термофильных микроорганизмов, учитывает данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемым тематикам.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии автора в сборе материала в Прибайкальском регионе, выделении большей части штаммов термофильных бактерий, подготовке материала для секвенирования геномов бактерий, разработке экспрессионных генно-инженерных конструкций для создания продуцентов, клонировании, наработке и очистке рекомбинантных белков, изучении свойств ферментов, а также в анализе данных на всех этапах работы, интерпретации полученных результатов и подготовке публикаций. Микроскопический анализ проводился совместно с коллегами по Институту.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют, п. 10. «Генетическая клеточная инженерия. Трансгенные организмы», п.11. «Генетические основы биотехнологии», п.12. «Структурная, функциональная и эволюционная геномика. Генетическая биоинформатика. Геносистематика», п.13. «Частная генетика микроорганизмов, растений и животных. Генетика соматических клеток. Симбиогенетика».

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 23 июня 2016 года диссертационный совет принял решение присудить **Розанову Сергею Алексеевичу** учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 7 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за — 20, против — 1, недействительных бюллетеней — нет.

Председатель
диссертационного совета,
академик РАН



В.К. Шумный

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

23.06.2016 г.