

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 217.013.01 НА БАЗЕ  
Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Государственный  
научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных  
микроорганизмов» (ФГБУ «ГосНИИгенетика») ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

О присуждении Коноплевой Марии Николаевны, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Механизмы регуляции «quorum sensing» системы первого типа психрофильных люминесцирующих бактерий *Aliivibrio logei*»

по специальности 03.02.07 – «Генетика» принята к защите 18 октября 2016г., протокол № 5 диссертационным советом Д 217.013.01 на базе ФГБУ «ГосНИИгенетика», 117545 Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1, утвержденного приказом Минобрнауки РФ № 105/НК от 11 апреля 2012г.

Соискатель Коноплева Мария Николаевна, 1977 года рождения, в 2000 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)» (МФТИ). В 2013 году соискатель окончила аспирантуру при Всероссийском научно-исследовательском институте селекции и семеноводства овощных культур, в настоящее время работает научным сотрудником в лаборатории молекулярной генетики МФТИ. Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной генетики МФТИ и в лаборатории генетики бактерий ФГБУ «ГосНИИгенетика».

Научный руководитель – доктор биологических наук, Манухов Илья Владимирович, МФТИ, лаборатория молекулярной генетики, заведующий лабораторией; ФГБУ «ГосНИИгенетика», лаборатории генетики бактерий, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Хмель Инесса Александровна, доктор биологических наук, профессор, ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, лаборатория регуляции экспрессии генов микроорганизмов, заведующий лабораторией,

Берцова Юлия Васильевна, кандидат биологических наук, МГУ им. Ломоносова, НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, отдел молекулярной энергетике микроорганизмов, старший научный сотрудник дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН), Москва, в своем положительном заключении, подписанном Мардановым А.В., д.б.н., ФИЦ Биотехнологии РАН, руководитель группы геномики микроорганизмов, указала, что диссертация является оригинальным экспериментальным исследованием на актуальную тему, выполненным на самом современном методическом и теоретическом уровне, имеющем несомненное фундаментальное и прикладное значение. Сделанные замечания носят, в основном, рекомендательный характер и касаются не вполне корректной формулировки первого вывода работы, недостаточной обоснованностью утверждения автора о 70% составе психрофильных светящихся бактерий от микробиома кишечника рыб, что следовало бы показать дополнительными молекулярными исследованиями. Сделанное замечание о недостаточном внимании в диссертационном исследовании к специфичности разработанного биосенсора на НДМГ носит дискуссионный характер. Указано наличие опечаток и редакционных погрешностей в тексте диссертации и автореферата. Отмечено, что высказанные критические замечания, однако, не касаются основного результата диссертационной работы, определяющего ее новизну и научную значимость – установлению роли двух регуляторов люциферазного оперона у *A. logei* и поэтому не снижают общей высокой положительной оценки работы, а диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (редакция от 30.07.2014 г.), предъявляемых ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными интересами и достижениями в области генетики, микробиологии и

молекулярной биологии микроорганизмов, позволяющими оценить научную и практическую значимость диссертации.

Соискатель имеет 5 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 5 работ, опубликованные в рецензируемых научных изданиях 4, из них 2 статьи в журналах из списка ВАК, 2 статьи в международных журналах, получен 1 патент РФ на изобретение. Материалы диссертации доложены на двух международных конференциях. Список научных работ по теме диссертации:

1) Коноплева М.Н., Хрульнова С.А., Осетрова М.С., Дегтев Д.И., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б.. Анализ люминесцирующей микрофлоры кишечника рыб студёных морей: Белого, Берингова и Охотского // Труды ВНИРО– 2015. – Т. 157. – С. 23–30.

2) Мелькина О. Е., Котова В. Ю., Коноплева М.Н., Манухов И. В., Пустовойт К. С., Завильгельский Г. Б. Фотореактивация УФ-облученных бактерий *Escherichia coli* АВ 1886  $\text{uvrA6}$ , индуцируемая свечением люциферазы *Photobacterium leiognathi* // Молекулярная биология. - 2015. - Т. 49, № 6. - С. 1035-1040.

3) Khrulnova SA, Baranova A, Bazhenov SV, Goryanin II, Konopleva MN, Maryshev IV, Salykhova AI, Vasilyeva AV, Manukhov IV, Zavilgelsky GB. Lux-operon of the Marine Psychrophilic Bacteria *Aliivibrio logei*: a Comparative Analysis of the LuxR1/LuxR2 Regulatory Activity in *Escherichia coli* cells // Microbiology. - 2016 - 162: 717-724.

4) Konopleva MN, Khrulnova SA, Baranova A, Ekimov LV, Bazhenov SV, Goryanin II, Manukhov IV. A combination of luxR1 and luxR2 genes activates Promoters of psychrophilic *A. logei* lux-operon independently of chaperonin GroEL/ES and protease Lon at high concentrations of autoinducer // Biochem Biophys Res Commun. - 2016 - 473(4):1158-62.

5) Манухов И. В., Горбунов М. А., Дёгтев Д. И., Завильгельский Г. Б., Кессених А. Г., Коноплева М. Н., Котова В. Ю., Краснопеева Е. Д., Мотовилов К. А., Осетрова М. С., Чалкин С. Ф., Шатров Т. Я. «Набор lux- биосенсоров для определения генотоксичных продуктов неполного окисления несимметричного диметилгидразина в среде» // Патент РФ №2569156 Дата подачи 18.12.2014.

Вклад соискателя в проведение исследований, результаты которых опубликованы в первой и четвертой работах, является основным, во второй, третьей и пятой работах соискатель непосредственно участвовал в выполнении ряда экспериментальных задач и обсуждении результатов.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы:

от Мюге Николая Сергеевича, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной генетики, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО). Без замечаний.

от Сидорука Константина Васильевича, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБУ «ГосНИИгенетика». Без замечаний.

от Высоких Михаила Юрьевича, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией митохондриальной медицины НЦАГиП им. В.И.Кулакова, г. Москва. Из недостатков отмечена необходимость придерживаться единства в терминах на протяжении всего текста автореферата.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Установлен феномен сезонного изменения видового состава кишечной микрофлоры рыб в акваториях Охотского и Берингова морей.

Получены данные о принадлежности бактерии *A. logei* и *A. salmonicida* к одному виду.

Доказано распространение бактерий *A. logei* с двумя регуляторными генами *luxR* по всем исследованным студёным (арктическим) морям.

Выявлены особенности в регуляции QS системы первого типа и исследована роль каждого из двух генов *luxR1* и *luxR2* в QS регуляции *lux*-оперона *A. logei*.

Предложена оригинальная научная гипотеза о необходимости гена *luxR1* для работы «quorum sensing» системы в стрессовых условиях, не смотря на недостаток шаперонов если при этом в среде высокая концентрация аутоиндуктора.

Исследована биологическая роль конститутивной и QS-регулируемой биолюминесценции в выживаемости бактерий при УФ-облучении.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Изложены факты, которые расширяют понимание механизмов функционирования QS системы у психрофильных и мезофильных бактерий.

Изучена роль lux-оперонов, регулируемых QS-системой первого типа, в фотозащите от УФ-излучения бактерий и их адаптации в стрессовых условиях.

Проведена модернизация использованной ранее тест-системы для контроля содержания токсичных продуктов неполного окисления НДМГ в окружающей среде, которая обеспечила более высокую чувствительность и специфичность.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Разработан новый набор lux-биосенсоров, который позволяет с более высокой чувствительностью и специфичностью проводить контроль над содержанием токсичных, в том числе алкилирующих продуктов неполного окисления НДМГ в окружающей среде.

Представлены рекомендации по использованию полученных данных о преимущественном распространении зимой бактерий, билюминесценция которых регулируется QS-системой первого типа, при разработке профилактических мер с целью снижения рыбных заболеваний и повышения производительности аквакультурных хозяйств.

Представлены предложения по реклассификации различных штаммов светящихся психрофильных бактерий *A. logei* и *A. salmonicida*.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что работа Коноплевой М.Н. выполнена на высоком методическом уровне:

Для экспериментальных работ показана воспроизводимость результатов исследований в различных условиях, результаты получены на сертифицированном оборудовании.

Теоретические положения и выводы, изложенные в диссертационной работе, базируются на полученных экспериментальных авторских результатах и анализе современных литературных данных.

Установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение является обоснованным.

Применительно к проблематике диссертации результативно, с получением, обладающих новизной результатов, использован комплекс современных методов численных и экспериментальных методов генетики, молекулярной биологии и микробиологии.

Личный вклад соискателя состоит в том, что все представленные в диссертационной работе экспериментальные результаты получены самостоятельно. Коноплева М.Н. принимала непосредственное участие в сборе и идентификации светящихся бактерий, проведении микробиологических, генетических и молекулярно-биологических экспериментах, работе с lux-биосенсорами, а также биоинформационном анализе полученных данных, обсуждении выявленных данных и подготовке основных публикаций по выполненной работе.

На заседании 20 декабря 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Коноплевой М.Н. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.02.07 – генетика, участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 16, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель диссертационного совета

д.б.н., профессор, академик РАН

Дебабов В.Г.

Ученый секретарь диссертационного совета

к.х.н., доцент

Воюшина Т.Л.