

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ МИКРООРГАНИЗМОВ им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН)

142290, Московская обл., г. Пушкино, просп. Науки, д. 5
Тел./факс: (495) 956-33-70, тел. (495) 625-74-48, E-mail: boronin@ibpm.pushchino.ru, <http://www.ibpm.ru>
ИНН/КПП 5039000146/503901001, ОГРН 1025007771491

15.03.2018 № 104-О.П.-11/20
На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ:

Врио директора

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

Института биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина

Российской академии наук,

д.б.н. А.А. Леонтьевский

«15» 03 20 18 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук.

Диссертация Екимовой Галины Александровны «Филогенетическая и биохимическая характеристика 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминаз и D-цистеиндесульфогидраз у представителей рода *Methylobacterium*» выполнена в лаборатории радиоактивных изотопов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН).

В 2010 году Екимова Г.А. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный университет» (АГУ) с присвоением степени Бакалавра биологии по направлению «Биология», в 2012 г. окончила магистратуру Федерального государственного

бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пушкинского государственного естественно-научного института» (ПушГЕНИ) с присвоением степени Магистра биологии по направлению «Биология».

Екимова Г.А. освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования ПушГЕНИ по направлению 03.02.03 – «Микробиология» в 2012-2018 гг. В период работы над диссертацией соискатель работала в должности лаборанта в лаборатории радиоактивных изотопов ИБФМ РАН, в настоящее время она работает в должности младшего научного сотрудника.

Екимовой Г.А. были успешно сданы следующие кандидатские экзамены: «История и философия науки» - отлично, «Иностранный язык (английский)» - отлично, «Микробиология» - отлично.

Научный руководитель - доктор биологических наук Доронина Нина Васильевна, ведущий научный сотрудник лаборатории радиоактивных изотопов ИБФМ РАН, профессор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пушкинского государственного естественно-научного института» (ПушГЕНИ).

По результатам рассмотрения диссертации Екимовой Г.А. «Филогенетическая и биохимическая характеристика 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминаз и D-цистеиндесульфогидраз у представителей рода *Methylobacterium*» принято следующее заключение:

Актуальность темы диссертационной работы Екимовой Г.А. обусловлена важностью изучения основ фитосимбиоза мезофитов на уровне ферментов, определяющих их взаимодействие с растениями, а также регуляции генов, кодирующих эти белки, которое позволит реализовать биотехнологический потенциал аэробных мезофитных бактерий и разработать новые биопрепараты с заданными свойствами для стимуляции роста и развития растений.

Диссертационная работа Екимовой Г.А. является законченным научным исследованием, научно-квалификационной работой, которая посвящена исследованию метаболического разнообразия аэробных мезофитов, ассоциированных с растениями, идентификации генов и их продуктов, обеспечивающих взаимодействие мезофитов с растениями. По совокупности представленных результатов диссертационная работа может быть классифицирована как существенное научное достижение в области микробиологии.

Личное участие соискателя в получении результатов заключается в проведении экспериментов с использованием микробиологических, биохимических и молекулярно-

генетических методов по изучению ферментов катаболизма растительных аминокислот у аэробных метилотрофных бактерий, а также обработке, интерпретации полученных результатов и подготовке публикаций по выполненной работе.

Достоверность результатов исследований подтверждается применением в работе современных методов исследований, компьютерных программ для обработки данных и использованием сертифицированного оборудования для измерений.

Новизна проведенных исследований обусловлена тем, что впервые у метилотрофов различного таксономического положения проведен скрининг на наличие генов ферментов катаболизма растительных аминокислот – 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты и D-цистеина – АЦК-деаминазы и D-цистеиндесульфогидазы, а также проведен филогенетический анализ транслированных аминокислотных последовательностей этих генов. Клонированы гены и охарактеризованы рекомбинантные АЦК-деаминазы из клубенькового симбионта *Methylobacterium nodulans* ORS 2060 и факультативно метилотрофной актинобактерии *Amycolatopsis methanolica* 239. Впервые для метилотрофов получены делеционные мутанты эпифитной метилотрофной бактерии *M. radiotolerans* по структурному и регуляторному генам АЦК-деаминазы, а также их комплементированные варианты, проанализирована их способность к деградации АЦК. Впервые для альфапротеобактерий, клонирован и очищен регуляторный белок AcdR, относящийся в Lrp-семейству, а также выявлена его роль в регуляции АЦК-деаминазы у *M. radiotolerans*.

Практическая значимость полученных результатов обусловлена тем, что данная работа расширяет и углубляет знания о механизмах симбиоза метилотрофов с растениями и позволяет реализовать их биотехнологический потенциал, разработать биопрепараты-стимуляторы роста и развития растений, повышающие продуктивность и увеличивающие устойчивость растений к стрессовым воздействиям и фитопатогенам. Разработанные автором системы вырожденных олигонуклеотидных праймеров для детекции и амплификации генов АЦК-деаминаз и D-цистеиндесульфогидаз позволяют в дальнейшем оценить способность бактерий различного таксономического положения в чистых культурах и сообществах к деградации растительных аминокислот и стимуляции роста и развития растений.

Ценность научных работ соискателя заключается в том, что в них изложены результаты исследований распространения генов, биохимических свойств, а также регуляции активности ферментов катаболизма растительных аминокислот у аэробных метилотрофных бактерий.

Диссертационная работа Екимовой Г.А. соответствует специальности 03.02.03
- Микробиология.

Основные материалы диссертации опубликованы в трех статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК, и одиннадцати тезисах конференций, в том числе с международным участием.

Список публикаций автора по теме диссертационной работы:

Статьи:

1. Fedorov D.N., Ekimova G.A., Doronina N.V., Trotsenko Yu.A. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminases from *Methylobacterium radiotolerans* and *Methylobacterium nodulans* with higher specificity for ACC // FEMS Microbiology Letters. 2013. V. 343. P. 70-76.

2. Екимова Г.А., Федоров Д.Н., Доронина Н.В., Троценко Ю.А. 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминаза аэробного факультативно метилотрофного актиномицета *Amicolatopsis methanolica* 239 // Микробиология. 2015. Т. 84. № 4. С. 493-495.

3. Ekimova G.A., Fedorov D.N., Tani A., Doronina N.V., Trotsenko Y.A. Distribution of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase and D-cysteine desulfhydrase genes among type species of the genus *Methylobacterium*. // Antonie van Leeuwenhoek (2018). <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1061-5>

Тезисы:

1. Екимова Г.А., Федоров Д.Н. Характеристика 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат-дезаминаз у аэробных метиловых бактерий // Сборник тезисов 15-й Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология – Наука XXI века». Пущино. 2011. С. 355-356.

2. Екимова Г.А., Федоров Д.Н. 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы аэробных метилотрофных бактерий: биохимические и филогенетические аспекты. // Сборник тезисов VII Молодежной школы-конференции с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии». ИНМИ РАН. Москва: МАКС Пресс. 2011. С. 19-21.

3. Екимова Г.А., Федоров Д.Н., Доронина Н.В. Аэробные метилотрофные бактерии-фитосимбионты, стимуляторы роста и развития растений. // Материалы Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2011». Тула: ТулГУ. 2011. С. 27.

4. *Замахаева С.А., Екимова Г.А., Федоров Д.Н.* Получение делеционных мутантов *Methylobacterium radiotolerans* по генам биосинтеза фитогормонов // Сборник тезисов 16-й Пушкинской международной школы - конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века». Пушкино, 2012. С. 123-124.

5. *Замахаева С.А., Екимова Г.А., Федоров Д.Н.* Получение делеционных мутантов *Methylobacterium radiotolerans* по генам, обуславливающим фитосимбиоз // Симбиоз-Россия 2012: материалы V Всероссийского с международным участием медико-биологического конгресса молодых ученых. Тверь: «Заповедник времени». 2012. С. 314-315.

6. *Екимова Г.А., Федоров Д.Н.* Получение делеционных мутантов метиловых бактерий-фитосимбионтов по структурным и регуляторным генам 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы // Сборник тезисов 17-ой Пушкинской международной школы - конференции молодых ученых. Пушкино, 2013. С. 15-16.

7. *Екимова Г.А., Федоров Д.Н.* Изучение роли белка AcdR в регуляции биосинтеза 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы метиловых бактерий-фитосимбионтов // Материалы Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология – 2013». Тула, 2013. С.62.

8. *Екимова Г.А., Федоров Д.Н.* Новые данные о транскрипционной регуляции экспрессии гена АЦК-дезаминазы у *Methylobacterium radiotolerans* // Сборник тезисов 18-ой Международной Пушкинской школы - конференции молодых ученых 21-25 апреля 2014 года. Пушкино, 2014. С. 202-203.

9. *Екимова Г.А., Федоров Д.Н.* Клонирование и характеристика 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы из *Amycolatopsis methanolica* 239 // Материалы Всероссийского симпозиума с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов». МГУ имени М.В. Ломоносова. Москва: МАКС Пресс, 2014. С. 85.

10. *Федоров Д.Н., Екимова Г.А.* Новые данные о регуляции транскрипции гена 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы у *Methylobacterium radiotolerans*. // Материалы Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология – 2016». Тула, 2016. С. 139-140.

11. *Екимова Г.А.* Транскрипционная регуляция гена 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминазы у *Methylobacterium radiotolerans* // Материалы IV Пушкинской школы-конференции «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов». ИБФМ РАН. Пушкино, 2017. С. 46-47.

Диссертация «Филогенетическая и биохимическая характеристика 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатдезаминаз и D-цистеиндесульфогидраз у представителей рода *Methylobacterium*» Екимовой Галины Александровны рассмотрена на совместном семинаре Отдела «Всероссийской коллекции микроорганизмов», лаборатории радиоактивных изотопов и лаборатории анаэробных микроорганизмов ИБФМ РАН 29 января 2018 г. и рекомендована к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - Микробиология.

Заключение утверждено на заседании Ученого Совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук 15 марта 2018 г., протокол № 2.

Зав. отделом «Всероссийская коллекция микроорганизмов»
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биохимии
и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук,
д.б.н.



Евтушенко Л. И.