

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д002.247.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по диссертации Анциферова Дмитрия Викторовича на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Решение диссертационного совета от 27 февраля 2018 г. №1
о присуждении Анциферову Дмитрию Викторовичу, гражданину Российской Федерации,
ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация **Анциферова Дмитрия Викторовича «Выделение из кислых шахтных отходов и культивирование сульфатредуцирующих бактерий, перспективных для образования сульфидов металлов»** по специальности 03.02.03 – «Микробиология» принята к защите 21 декабря 2017 г. протокол № 6 диссертационным советом Д002.247.02 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр.2. Совет утвержден Министерством образования и науки Российской Федерации (Минобрнауки России) приказом № 205/нк от 16.03.2017 г.

Соискатель **Анциферов Дмитрий Викторович**, 1982 года рождения, гражданин РФ, в июне 2004 г. Томский государственный университет (г. Томск), с присвоением квалификации «биолог», специальность «биология». В период 01.11.2004 по 31.10.2007 проходил обучение в очной аспирантуре Томского государственного университета. В период июнь 2011 по июнь 2016 проходил обучение в Томском государственном университете систем управления и радиоэлектроники (г. Томск) по специальности «промышленная электроника». Диссертационную работу соискатель Анциферов Д.В. выполнял в лаборатории биохимии и молекулярной биологии Кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института Томского государственного университета. В настоящий момент работает в должности старший преподаватель кафедры физиологии растений и биотехнологии Биологического института Томского государственного университета (г. Томск).

Научный руководитель - доктор биологических наук, Карначук Ольга Викторовна, профессор, зав. кафедрой физиологии растений и биотехнологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г.Томск).

Официальные оппоненты:

Щербакова Виктория Артуровна, гражданка РФ, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией анаэробных микроорганизмов Федерального государственного бюджетного

учреждения науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина» Российской академии наук (ИБФМ РАН);

Грабович Маргарита Юрьевна, гражданка РФ, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и физиологии клетки Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук в своем положительном заключении указала, что диссертационная работа Анциферова Д.В. является современным законченным научным трудом, имеющим фундаментальное и практическое значение в области микробиологии, которое соответствует требованиям, изложенным в п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а её автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются признанными специалистами в области микробиологии. Так, доктор биологических наук Грабович Маргарита Юрьевна известна своими исследованиями в области физиологии и метаболических особенностей бактерий, в частности, бактерий цикла серы. Среди интересов другого оппонента, кандидата биологических наук Щербаковой Виктории Артуровны, лежат исследования физиологии анаэробных бактерий, их метаболические особенности и применение в биотехнологии. Квалификация оппонентов подтверждается наличием большого числа публикаций в высоко цитируемых российских и зарубежных журналах. Выбор ведущей организации связан с тем, что в учреждении проводятся исследования в области физиологии и экологии как микробных сообществ, так и бактерий цикла серы, связанные с тематикой представленной диссертационной работы, что также подтверждается наличием соответствующих публикаций. Высокая квалификация оппонентов и ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность диссертационной работы.

Основные результаты диссертационной работы Анциферова Д.В. изложены в 4 статьях рецензируемых научных изданий, которые удовлетворяют требованиям п.11 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842:

1. **Antsiferov D.V.**, Fyodorova T.S., Kovalyova A.A., Lukina A., Frank Y.A., Avakyan M.R., Banks D., Tuovinen O.H., Karnachuk O.V. (2017) Selection for novel, acid-tolerant *Desulfovibrio* spp. from a closed Transbaikal mine site in a temporal pH-gradient bioreactor. *Antonie van Leeuwenhoek*. V. 110. Iss. 12. P. 1669-167 (doi:10.1007/s10482-017-0917-4).
2. Kovaliova A.A., Kadnikov V.V., **Antsiferov D.V.**, Beletsky A.V., Danilova E.V., Avakyan M.R., Mardanov A.V., Karnachuk O.V. (2017) Genome sequence of the acid-tolerant

- Desulfovibrio* sp. DV isolated from the sediments of a Pb-Zn mine tailings dam in the Chita region, Russia. Genomics Data. V. 11. P. 125–127.
3. Mardanov A.V., Panova I.A., Beletsky A.V., Avakyan M.R., Kadnikov V.V., **Antsiferov D.V.**, Banks D., Frank Y.A., Pimenov N.V., Ravin N.V., Karnachuk O.V. (2016) Genomic insights into a new acidophilic, copper-resistant *Desulfosporosinus* isolate from the oxidized tailings area of an abandoned gold mine. FEMS Microbiology Ecology. V. 9 (8)2. fiw111.
 4. Frank Y.A., Banks D., Avakyan M.R., **Antsiferov D.V.**, Kadychagov P.B. and Karnachuk O.V. (2016) Firmicutes is an important component of microbial communities in water-injected and pristine oil reservoirs; Western Siberia, Russia. Geomicrobiology J. V. 33(5). P. 387-400.

Результаты работы были также представлены на 5 международных и российских конференциях: 11th International Congress on Extremophiles (Extremophiles 2016) (Kyoto, Japan, 2016); X молодежной школы-конференции с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, Россия, 2015); Биотехнология, биоинформатика и геномика растений и микроорганизмов. Всероссийская молодежная научная конференция с международным участием (Томск, Россия, 2016); V Съезд физиологов СНГ, V Съезд биохимиков России, Конференции ADFLIM (Сочи-Дагомыс, Россия, 2016); 14th International meeting on thermophile biology (Mpumalanga, South Africa, 2017).

В публикациях отражены результаты экспериментальной части в рамках диссертационной работы.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Грабович М.Ю. (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

1. Первое замечание касается терминологии: принято использовать термин сероокисляющие, а не серуокисляющие бактерии; элементная сера, а не элементарная; И термин детоксицируют является явным англицизмом. В русской терминологии лучше использовать такие термины как – участвуют в детоксикации, в удалении и т.д.
2. Хотелось уточнить какие механизмы аэротолерантности известны для сульфатредукторов? Это только футильный сброс электронов от цитохромов, например, с цитохрома bd, на кислород с образованием воды, как у изолятов *Desulfovibrio*, или известны и другие способы защиты от АФК?
3. Как вы объясняете механизм сброса электронов от лактата, глицерола, пептона и этанола на цитохром? Как правило, при окислении органических веществ образуется НАДН, который и поступает в ЭТЦ. Однако в вашем случае НАДН не влиял на потребление кислорода. Возможно ли, что в данном случае функционируют не НАД-зависимые ферменты, а флавинзависимые древние малоэффективные формы

ферментов? Например, вместо НАД-зависимой лактатдегидрогеназы функционирует флавинзависимый фермент лактат-цитохром-с-оксидаза. Есть ли какие-то сведения в литературе по этому вопросу?

Отзыв официального оппонента кандидата биологических наук Щербаковой В.А. (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

- Как изменялся начальный рН в конце культивирования при определении оптимальных значений рН для роста культур?
- Почему исследуемые металлы вносили в виде хлоридов, а не в виде сульфатов, как в случае с медью?
- Помещены ли штаммы исследованных культур сульфатредукторов в публичные коллекции микроорганизмов, например ВКМ?
- Депонированы ли последовательности генов 16S рНК в GenBank? В тексте диссертации и на филогенетических дендрограммах этих номеров нет.
- При указании на филогенетически ближайшего родственника необходимо писать не только название вида, но и название штамма, например, *Desulfovibrio idahonensis* СУ^T. Название семейств, порядков и более высоких таксонов необходимо писать курсивом.

Отзыв Ведущей организации Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

- 1) В методах (раздел 2.2.9, стр.48) указано, что концентрации основных анионов определены с помощью ионной хроматографии, хотя в названии таблицы 2 указан только один метод – масс-спектральный анализ с индуктивно-связанной плазмой. Нигде не приведены названия приборов и не указаны погрешности измерений.
- 2) Не очень понятно, почему пробы были отобраны в районе Акатуйского месторождения, где рН среды была нейтральной или близко к нейтральной?
- 3) Не корректно говорить, что филогенетический анализ структуры гена 16S рНК относит выделенный штамм к определенному таксону, он свидетельствует об идентичности полученных последовательностей с последовательностями из базы данных.
- 4) Стр. 86 – название таблицы: «Предельные концентрации металлов, позволяющие рост штаммов СРБ ...», возможно лучше использовать: «при которых отмечался рост СРБ»?
- 5) На стр. 90 перепутано название штамма, скорее всего речь идет о штамме *Desulfovibrio* sp. VK.
- 6) Почему была предпринята попытка создания бинарной культуры ацидофильных СРБ, а, например, не культуры штамма СРБ и ацидофильного бактериального штамма? Ведь тот

и другой штамм СРБ способны осаждать кобальт, а их одновременное культивирование потребовало смену субстрата?

- 7) В тексте встречается различное написание таксонов, в каком-то случае классы и семейства указаны курсивом, в каком-то строчными буквами. Например, на стр. 68 класс *Deltaproteobacteria*, на стр. 69 – класс Deltaproteobacteria.
- 8) Не совсем понятно, каким образом выбирали доминирующие филумы по результатам ДГГЭ, из какого количества полос и какой интенсивности свечения? Хотелось бы видеть профили бактериальных сообществ на электрофореграммах.

На автореферат поступили положительные отзывы. Отзывы прислали:

1. Старший научный сотрудник лаборатории аналитической биоорганической химии, кандидат биологических наук, доцент ФГБУН Лимнологический институт СО РАН Белькова Н.Л. Замечаний нет.
2. И.о. зам. Директора Института фундаментальных проблем биологии РАН, доктор биологических наук Васильева Л.Г.
3. Ведущий научный сотрудник, зав. сектором экологической микробиологии ФГБНУ Агрофизический научно-исследовательский институт, кандидат биологических наук Галушко А.С.
4. Старший научный сотрудник лаборатории микробиологии ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, кандидат биологических наук Данилова Э.В и зав.лабораторией микробиологии, кандидат биологических наук Бархутова Д.Д.
5. Доктор биологических наук, профессор, академик РАН, зав. лабораторией алканотрофных микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН Пермского Федерального исследовательского центра УрО РАН, профессор кафедры микробиологии и иммунологии пермского государственного национального исследовательского университета Ившина И.Б.
6. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Заведующий лабораторией радиоактивных изотопов, доктор биологических наук, профессор Троценко Ю.А. и старший научный сотрудник лаборатории радиоактивных изотопов, кандидат биологических наук Торгонская М.А.

В дискуссии приняли участие д.б.н. Пименов Н.В., д.б.н. Назина Т.Н.

Диссертационный совет отмечает что, что диссертация Анциферова Д.В., посвященная выделению и изучению физиологических особенностей сульфатредуцирующих бактерий из кислых шахтных отходов, является завершенной научно-квалификационной работой.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что в ходе исследований были выделены и охарактеризованы новые ацидофильные и ацидотолерантные сульфатредуцирующие бактерии, относящихся к родам *Desulfovibrio* (Deltaproteobacteria) и *Desulfosporosinus* (Firmicutes). В работе использован новый методический подход для выделения ацидотолерантных штаммов *Desulfovibrio*, основанный на создании временного градиента pH и мониторинга доминирующих бактерий молекулярными методами при культивировании консорциума в биореакторе.

Проанализированы последовательности генов 16S рНК новых штаммов и определено их филогенетическое положение. Для штамма *Desulfovibrio* sp. DV расшифрована последовательность генома (драфт). В геноме обнаружены последовательности, связанные с механизмами устойчивости к низким pH и тяжелым металлам. Все последовательности депонированы в базу данных NCBI.

Показана возможность получения биогенных кристаллических сульфидов кобальта и меди бинарной культурой и чистыми культурами сульфатредуцирующих бактерий при периодическом и непрерывном культивировании в кислых средах.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что выделены и охарактеризованы ацидофильные и ацидотолерантные микроорганизмы, которые могут найти применение в биотехнологии. Данные, полученные в результате культивирования новых штаммов в биореакторе, могут быть использованы для создания биотехнологических схем по очистке сточных вод металлургических предприятий или получения кристаллических сульфидов металлов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: достоверность полученных результатов обеспечивается проведением исследований на сертифицированном оборудовании. Диссертационная работа Анциферова Д.В. выполнена с помощью современных и классических микробиологических, молекулярных и физико-химических методов исследования. По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них: 4 экспериментальные работы (в журналах, утвержденных ВАК), а также 4 тезисов конференций. Автореферат полностью отражает основные научные результаты диссертации.

Личный вклад соискателя. Соискатель лично принимал участие во всех этапах работы: в проведении анализа литературы, разработке методов исследования и планировании экспериментов, проведении экспериментов, анализе и обобщении полученных результатов, подготовке публикаций и докладов по выполненной работе.

Диссертация Анциферова Д.В. является законченной научно-квалификационной работой, что подтверждается наличием логичного плана исследования, использованием большого арсенала современных методов и взаимосвязанностью выводов и результатов. Диссертация соответствует профилю Совета и требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в соответствии с «Положением о порядке присуждения ученых степеней».

На заседании 27 февраля 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Анциферову Дмитрию Викторовичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 чел., из них 10 докторов биологических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали «за» присуждение ученой степени 17, «против» - 0, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета Д002.247.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
Доктор биологических наук




Пименов Н.В.

Ученый секретарь диссертационного совета Д002.247.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
Доктор биологических наук


Хижняк Т.В.

«27» февраля 2018 г.