

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.233.02 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 Ельченинова Александра Геннадьевича «Метаболизм представителей филума *Planctomycetes*, обитающих в термальных экосистемах» на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Решение диссертационного совета от 30 июня 2022 г. №7 о присуждении Ельченинову Александру Геннадьевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация Ельченинова Александра Геннадьевича «Метаболизм представителей филума *Planctomycetes*, обитающих в термальных экосистемах» по специальности – 1.5.11. – Микробиология принята к защите 28 апреля 2022 г. протокол № 4 диссертационным советом 24.1.233.02 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. (с учетом переименования Совета от 03.06.2021 г. №561/нк).

Соискатель Ельченинов Александр Геннадьевич, 1992 года рождения, гражданин РФ, в 2015 г. окончил ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по специальности микробиология. В период 2015-2019 гг. проходил обучение в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН). С 2015 г. работает младшим научным сотрудником в лаборатории метаболизма экстремофильных прокариот ФИЦ Биотехнологии РАН. Диссертационная работа Ельченинова Александра Геннадьевича «Метаболизм представителей филума *Planctomycetes*, обитающих в термальных экосистемах» выполнена в лаборатории метаболизма экстремофильных прокариот Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН.

Научный руководитель – Кубланов Илья Валерьевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией метаболизма экстремофильных прокариот Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, Земская Тамара Ивановна, заведующий лабораторией микробиологии углеводов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук кандидат биологических наук, Намсараев Зоригто Баирович, начальник лаборатории синтетической биологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» дали положительные отзывы.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского Отделения Российской академии наук - в своем положительном заключении указала, что диссертационная работа Ельченинова А.Г., посвященная исследованию новых представителей филума *Planctomycetes* из термальных источников и их метаболического потенциала, является завершенной научно-квалификационной работой. Диссертационная работа соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а сам автор, Ельченинов А.Г., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология.

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются признанными специалистами в области микробиологии. Так, доктор биологических наук Земская Тамара Ивановна известна своими исследованиями в области физиологии, таксономии и метагеномики бактерий. Кандидат биологических наук Намсараев Зоригто Баирович известен своими работами в области исследования микробных сообществ и чистых культур бактерий из разных местообитаний (оз. Байкал, Антарктида). Квалификация оппонентов подтверждается наличием большого числа публикаций в цитируемых российских и зарубежных журналах. Выбор ведущей организации связан с тем, что в учреждении проводятся исследования в области таксономии, филогении, филогеномики и биохимии микроорганизмов, 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 изложены в 4 статьях в рецензируемых научных изданиях, которые удовлетворяют требованиям п. 11 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842:

1. **Elcheninov A.G.**, Menzel P., Gudbergsdottir S.R., Slesarev A.I., Kadnikov V.V., Krogh A., Bonch-Osvolovskaya E.A., Peng X., Kublanov I.V. Sugar metabolism of the first thermophilic planctomycete *Thermogutta terrifontis*: comparative genomic and transcriptomic approaches // Front. Microbiol. – 2017. – V. 8. – 2140. doi: 10.3389/fmicb.2017.02140.

2. Bonch-Osmolovskaya E.A., **Elcheninov A.**, Zayulina K., Kublanov I.V. New thermophilic prokaryotes with hydrolytic activities // *Microbiol. Austral.* – 2018. – V. 39. – № 3. – P. 122-125. doi: 10.1071/MA18038.
3. Kovaleva O.L., **Elcheninov A.G.**, Toshchakov S.V., Novikov A.A., Bonch-Osmolovskaya, E.A., Kublanov I.V. *Tautonia sociabilis* gen. nov., sp. nov., a novel thermotolerant planctomycete, isolated from a 4000 m deep subterranean habitat // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2019. – V. 69. – № 8. – P. 2299-2304. doi: 10.1099/ijsem.0.003467
4. **Elcheninov A.G.**, Podosokorskaya O.A., Kovaleva O.L., Novikov A.A., Toshchakov S.V., Bonch-Osmolovskaya E.A., Kublanov I.V. *Thermogemmata fonticola* gen. nov., sp. nov., the first thermophilic planctomycete of the order *Gemmatales* from a Kamchatka hot spring // *Syst. Appl. Microbiol.* – 2021. – V. 44. – № 1. – P. 126157. doi: 10.1016/j.syapm.2020.126157

Материалы диссертации были доложены и обсуждены на международных и российских конференциях: 1) X-ой молодежной школе-конференции с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии» (27-30 октября 2015, Москва, Россия), 2) V съезде биохимиков России (4-8 октября 2016, Сочи, Россия), 3) 1-ом Российском Микробиологическом Конгрессе (17-18 октября 2017, Пущино, Россия), 4) 8th Congress of European Microbiologists FEMS2019 (7-11 July 2019, Glasgow, UK)

В публикациях отражены результаты экспериментальной части в рамках диссертационной работы.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Земской Т.И., (положительный). Отзыв содержит следующие замечания и вопросы:

1. В тексте приведен уровень контаминации геномов из баз данных, с которыми автор проводил сравнение. Однако для геномов собранных самим автором данная характеристика не указана. Проводилась ли проверка контаминации этих геномов?
2. Достаточен ли спектр углеводов, использованных вами для выделения планктомицетов, добавляют ли в этом плане полученные данные анализа геномов и метаболических путей?
3. В разделе 6.1 указано, что геномный анализ проводили у штаммов *Thermogutta terrifontis* R1 и *Tepidisphaera mucosa* 2842, хотя в разделах 8.1 и 8.2 приведены геномные данные для других штаммов: *Tautonia sociabilis* и *Thermogemmata fonticola*. Из текста не ясно, из какого источника был выделен штамм *Tepidisphaera mucosa* 2842. Более информативной была бы общая таблица с информацией об анализируемых видах планктомицетов, а не только выделенных автором работы. Ведь использованы штаммы, обитающие в совершенно разных горячих источниках, с разнообразным компонентным составом их вод и это может быть полезным для дальнейшего анализа особенностей метаболизма у разных таксонов.
4. Для вида *Thermogemmata fonticola* отмечен меньший размер генома, можете ли вы на основе имеющихся данных определить, какие функциональные гены отсутствовали, характерные для других представителей класса *Gemmatales*?
5. Имеются некоторые замечания относительно стиля изложения, очень длинные фразы (например, стр. 65), опечатки в словах, формулах.

Отзыв официального оппонента кандидата биологических наук Намсараева З.Б., (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

- 1) Автор использовал для получения накопительных культур модифицированную среду Пфеннига с уменьшенной концентрацией минеральных солей. Тем не менее, в работе не приведено достаточное обоснование того, почему пониженная минерализация среды была благоприятна для выделения планктомицетов. Необходимо отметить, что в тексте диссертации есть недостатки, которые затрудняют для читателя самостоятельный анализ данных. Например, в таблице 13 с описанием фенотипических свойств в строке «соленость» не указана размерность. Это граммы, проценты или другие единицы?
- 2) В тексте диссертации количество повторностей в экспериментах указано только для транскриптомного анализа, но не для других типов экспериментов, например, культивационных. Эта информация также должна быть представлена в тексте диссертации.
- 3) Автором была проведена значительная работа по анализу геномных и транскриптомных данных о путях метаболизма изолятов, в том числе по разложению ксантановой камеди. Было бы желательным подкрепить полученную информацию анализом данных полученных другими методами, например, хроматографическим анализом продуктов разложения ксантановой камеди. Это дало бы важную информацию для уточнения экологической роли планктомицетов в сообществе, где они, скорее всего, играют роль первичных деструкторов органического вещества.
- 4) В целом оформление диссертации производит положительное впечатление. Необходимо отметить хорошую подачу иллюстративного материала. Но структура глав текста диссертации может быть улучшена. Например, «Глава 5. Возможное применение планктомицетов в биотехнологии» занимает около 2/3 страницы и состоит из двух абзацев. Автору было бы желательным более тщательно спланировать структуру текста диссертации с учетом объемов доступной ему информации.

Отзыв ведущей организации Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского Отделения Российской академии наук – отзыв положительный. Некоторые замечания и вопросы:

1. В разделе, посвященном транскриптомному анализу клеток *T. terrifontis* (9.6), выращенных на ксантановой камеди, не указаны возможные пути ее (или ее олигомеров) импорта внутрь клетки. Проводился ли подобный анализ?
2. В части раздела 10.3, посвященной сравнению наборов ферментов, разлагающих полисахариды, у представителей класса *Phycisphaerae* стоило уделить больше внимания анализу конкретных активностей белков, относящихся к разным семействам гликозидаз и полисахаридлиаз.
3. Для выделения чистых культур в Главе 7 приведены в качестве субстратов как полисахариды из растений, так и бактериального происхождения – ксантановая камедь (Табл. 4). Почему была выбрана именно она?

4. В Главе 7, посвященной выделению новых планктомицетов, автор не приводит информации о времени культивирования накопительных культур, хотя это важный параметр для воспроизводимости культивационных исследований.
5. На некоторых рисунках (например, рис. 26) выбрано не самое удачное сочетание цветов, также на других рисунках (рис. 33) присутствуют мелкие элементы/подписи, сложные для восприятия.

Однако замечания, безусловно, носят рекомендательный характер и никоим образом не умаляют достоинств работы.

На автореферат поступили положительные отзывы. Отзывы прислали:

1. Карначук О.В. – д.б.н., профессор, заведующий кафедрой физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики Томского государственного университета. Замечаний нет.
2. Качмазов Г.С. – к.вет.н., доцент кафедры товароведения и технологии продуктов питания, факультет химии, биологии и биотехнологии. ФГБОУ ВО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова». Замечаний нет.
3. Суворова И.А. – к.б.н., и.о. научного сотрудника Института Проблем Передачи Информации РАН. Замечания:
 - 1) Из рисунка 8 и дальнейшей функциональной характеристики неочевидна необходимость разделения клад I и II;
 - 2) Возможно, было бы полезно указать в таблице на Рисунке 9 основные функции упомянутых семейств гликозидаз и полисахаридлиаз.
4. Гавирова Л.А. – к.б.н., научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Замечания:
 - a. Чем снижение солености среды способствовало преимущественному росту планктомицетов в накопительных культурах;
 - b. Чем обусловлен выбор полисахаридов, использованных в качестве субстрата в накопительных культурах. Не позволили ли полученные в результате анализа геномов данные выявить полисахариды, использование которых в дальнейшем повысило селективность среды для накопительных культур.
5. Иванова А.А. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной экологии и филогеномики бактерий ФИЦ Биотехнологии РАН.
6. Куличевская И.С. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной экологии и филогеномики бактерий ФИЦ Биотехнологии РАН.

Все отзывы положительные.

Вопросы задавали: д.б.н. Пименов Н.В., д.б.н. Дедыш С.Н., д.б.н. Терешина В.М., д.б.н. Горленко В.М.

В дискуссии приняли участие: д.б.н. Дедыш С.Н., д.б.н. Терешина В.М., чл.-корр. РАН, д.б.н. Бонч- Осмоловская Е.А., к.б.н. Черных Н.А. (ФИЦ Биотехнологии РАН), д.б.н. Пименов Н.В.

Диссертационный совет отмечает, что диссертация Ельченинова А.Г., посвященная описанию новых представителей филума *Planctomycetes*, обитающих в термальных экосистемах, и изучению их метаболизма, в первую очередь путей разложения полисахаридов, центрального катаболизма углеводов и механизмов запасания энергии, является завершенной научной работой.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что расширены представления о метаболических возможностях представителей филума *Planctomycetes*. В ходе данной работы были описаны новые представители планктомицетов, которые выделены из термальных экосистем и образуют два новых рода в семействах *Isoisphaeraceae* и *Gemmataceae*. Секвенирован геном термофильного планктомицета *Thermogutta terrifontis* R1 и проведен его анализ. С использованием сравнительной геномики были реконструированы пути гидролиза полисахаридов, пути центрального катаболизма сахаров и механизмы запасания энергии у *T. terrifontis*. Предложен новый путь деструкции ксантановой камеди у *T. terrifontis*, основанный на данных геномики и транскриптомики. Определена и проанализирована геномная последовательность у *Tepidisphaera mucosa* 2842. С использованием сравнительного анализа 120 геномов представителей класса *Phycisphaerae* было выявлено, что этот класс разделяется на две метаболические группы (облигатные анаэробы и факультативные анаэробы). Проведенный филогеномный анализ *Phycisphaerae* показал, что этот класс представлен семью глубокими линиями уровня порядка.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что гидролитические ферменты планктомицетов (например, гликозидазы) могут быть применимы в биотехнологии. Особенно привлекательными для биотехнологии могут оказаться ферменты из термофильных планктомицетов. В частности, ферменты *Thermogutta terrifontis*, которые участвуют в гидролизе ксантановой камеди и делают ее менее вязкой. Этот процесс важен для нефтяной промышленности ввиду того, что ксантановая камедь используется как компонент различных растворов (буровые, жидкости для гидроразрыва пласта).

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что полученные результаты являются воспроизводимыми и достоверными, а выводы – обоснованными. При выполнении диссертационной работы был применен комплекс микробиологических, молекулярно-биологических и биоинформатических подходов.

По теме диссертации опубликовано: 8 научных работ, отражающих основные результаты, в том числе 4 статьи в изданиях, индексируемых в Web of Science и/или Scopus, РФ, а также 4 тезисов на научных конференциях. Автореферат полностью отражает основные научные результаты диссертации.

