

Министерство науки и высшего образования  
Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт общей и экспериментальной биологии  
Сибирского отделения Российской академии наук  
(ИОЭБ СО РАН)  
Сахьяновой М.ул., 6 Улан-Удэ г., 670047  
Тел.: 8(3012)434211, факс 8(3012)433034;  
E-mail: [ioeb@biol.bscnet.ru](mailto:ioeb@biol.bscnet.ru)  
ОКПО 03533369 ОГРН 1020300902511  
ИНН/КПП 0323039326/032301001

30.05.2022 г. № 271/ -01- 146

На № \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ  
Директор ФГБУН Институт общей и  
экспериментальной биологии СО РАН



Л.Л. Убугунов

2022

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

Ельченинова Александра Геннадьевича

на тему: «МЕТАБОЛИЗМ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ФИЛУМА  
*PLANCTOMYCETES*, ОБИТАЮЩИХ В ТЕРМАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ»,  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.11. - «Микробиология»

**Актуальность диссертационного исследования.** Планктомицеты – бактериальный филум с многочисленными отличительными и часто уникальными морфологическими, структурными, метаболическими и геномными характеристиками.

Представители филума *Planctomycetes* обнаружены как в водных, так и наземных местах обитания, различающихся по солености (от гиперсоленных до ультрапресных), доступности кислорода (от аэробной толщи воды и почв до бескислородных отложений), трофическому уровню (от олиготрофных озер до эвтрофных сточных вод) и температуре (от низкотемпературных экосистем до горячих источников). Такое космополитическое распределение

планктомицетов предполагает широкую способность адаптироваться к аэробным и анаэробным условиям окружающей среды, что возможно благодаря разнообразию метаболических путей. Степень исследованности метаболизма планктомицетов, обитающих в горячих источниках до недавних пор была крайне низкой, поскольку до 2015 года не было охарактеризовано ни одной чистой культуры термофильных планктомицетов. Все это стимулирует научный интерес к изучению разнообразия и поиска новых форм уникальных термофильных бактерий и изучению их метаболических процессов. В связи с чем, приведенные в диссертации результаты исследования метаболизма новых представителей филума *Planctomycetes*, обитающих в термальных экосистемах, в первую очередь путей деструкции полисахаридов, центрального катаболизма углеводов и механизмов запасания энергии являются актуальными и своевременными для фундаментальной науки, а также для практического применения.

**Научная новизна работы.** Полученные в диссертационной работе результаты обладают неоспоримой новизной и большой научной значимостью, так как впервые были охарактеризованы два новых рода семейства *Isosphaeraceae* и *Gemmataceae* филума *Planctomycetes*, выделенные из термальных мест обитания. *In silico* реконструирован метаболизм термофильного планктомицета *Thermogutta terrifontis* R1 – от гидролиза полисахаридов до механизмов запасания энергии. Применение транскриптомного и сравнительно-геномного анализа позволило впервые предложить новый путь гидролиза ксантановой камеди, ключевой особенностью которого является действие белков, содержащие домены DUF1080. Проанализирован набор генов *Tepidisphaera mucosa* 2842, кодирующих гликозидазы и полисахаридлиазы. Проведен сравнительный анализ геномов 120 культивируемых и некультивируемых представителей *Phycisphaerae*, позволивший выявить его разделение на две метаболические группы, а также провести полноценный филогеномный анализ этого класса планктомицетов.

В целом, полученные автором новые результаты исследований значительно расширяют знания о планктомицетах, обитающих в термальных экосистемах.

**Значимость результатов для науки и практики.** Рассматриваемая работа вносит существенный вклад в познание роли планктомицетов и их распространения в гидротермальных экосистемах. Полученные результаты обладают научной ценностью: значительно расширяют и углубляют современные представления о представителях филума *Planctomycetes* и их метаболическом потенциале. Термофильные планктомицеты могут послужить источником гидролитических ферментов для биотехнологии и создания ферментных препаратов, в частности, для нефтяной промышленности.

**Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений.** А.Г. Ельчениновым получены новые данные о метаболических особенностях представителей *Planctomycetes* из термальных местообитаний. Сравнительно-геномный анализ позволил существенно расширить представления о гидролитической активности планктомицетов. В работе задействован широкий спектр микробиологических, молекулярно-биологических и биоинформационических подходов. Автор, корректно применяет научную терминологию, последовательно и логично освещает структуру исследования. Достоверность защищаемых положений, результатов и выводов подтверждена большим объемом материала, опирается на статистическую обработку данных и не вызывает сомнений.

Сделанные автором выводы обоснованы, соответствуют поставленным цели и задачам, следуют из содержания диссертационной работы. Материалы диссертационной работы опубликованы в 8 печатных работах, 4 из них – в журналах, индексируемых в WOS и/или в Scopus. Результаты представлены на Всероссийских и международных конференциях и конгрессах. Количество публикаций соответствует требованиям ВАК для кандидатских диссертаций.

**Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению.** Диссертация А.Г. Ельченинова построена по традиционной схеме и состоит из введения, 10 глав, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Работа изложена на 116 страницах, содержит 37 рисунков и 16 таблиц. Список литературы репрезентативен, включает 206 источников. Работа логично структурирована, грамотно изложена.

Введение включает описание актуальности темы исследования, цели и задач, научной новизны работы, аprobации проведенного исследования на конференциях и в статьях. Также во введении представлен список из 9 публикаций автора, из которых 1 находится в печати.

Обзор литературы, состоящий из 5 глав, достаточно информативен и охватывает разноплановые исследования планктомицетов: изучение филогенетического разнообразия представителей *Planctomycetes*, их клеточной биологии, метаболизма и экологии, а также возможности применения в биотехнологии. Обобщена информация по изучению генетических, эволюционных и биохимических аспектов. Показано, что за последние годы произошел настоящий сдвиг парадигмы в области клеточной биологии планктомицетов.

Проанализировано распространение *Planctomycetes* в природе и установлено, около 2.4% последовательностей генов 16S рРНК *Planctomycetes* получены из термальных местообитаний. Показано, что планктомицеты, относящиеся к *Planctomycetia* и *Phycisphaerae*, выполняют в природе роль первичных деструкторов органического вещества, в первую очередь полисахаридов.

Глава 6 посвящена описанию объектов и методов исследования. Дано достаточно подробная характеристика методов приготовления сред для выделения и получения накопительных и чистых культур, использованы современные молекулярно-биологические, а также биоинформационные методы исследования новых таксонов – секвенирование и сборка геномов,

транскриптома, филогенетический и геномный анализы. Представлены методы электронной микроскопии и хемотаксономического анализа, а также методы статистической обработки результатов.

Полученные результаты представлены в главах 7, 8, 9 и 10. Выделению новых планктомицетов, обитающих в горячих источниках, посвящена глава 7. В ней дана характеристика образцов, отобранных из горячих источников, которые были использованы для выделения новых культур планктомицетов. В результате подбора источника углерода и условий культивирования выделена чистая культура, принадлежащая к новому таксону родового уровня в порядке *Tepidisphaerales*. Глава 8 посвящена характеристике 2 штаммов планктомицетов, ранее выделенных из термальных местообитаний. Фенотипическая характеристика и анализ филогенетического положения и геномный анализ штамма GM2012 показали, что он находится в корне семейства *Isosphaeraceae* и представляет новый таксон уровня рода и вида – *Tautonia sociabilis*. На основании изучения характеристик штамма 2918 описан новый род и вид термофильных планктомицетов, *Thermogemmata fonticola* (семейство *Gemmataceae*). Охарактеризованные новые представители *Planctomyces* участвуют в разложении разнообразных полисахаридов, в первую очередь, ксантановой камеди и гемицеллюлоз.

В главе 9 с использованием сравнительно-геномного анализа термофильного планктомицета *Thermogutta terrifontis* R1 впервые был детально исследован центральный метаболизм углеводов – от гидролиза полисахаридов до механизмов запасания энергии. Здесь представлены результаты реконструкции механизмов аэробного и анаэробного дыхания и предложен новый путь гидролиза ксантановой камеди.

Результаты секвенирования и анализа генома *Tepidisphaera mucosa* 2842 представлены в главе 10. В дальнейшем был проведен сравнительный геномный анализ 120 культивируемых и некультивируемых представителей *Phycisphaerae*. Было показано, что класс *Phycisphaerae* представлен семью

глубокими линиями уровня порядка, четыре из которых пока не содержат культивируемых представителей.

Автором выявлено, что в классе *Phycisphaerae* существует 2 метаболические группы органогетеротрофов: 1) облигатные анаэробные микроорганизмы, лишившиеся некоторых генов ЦТК и комплексов аэробного дыхания и 2) факультативные анаэробы, способные как к аэробному дыханию, так и к различным типам брожения.

По данной диссертационной работе есть следующие **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.

Вышеперечисленные замечания не снижают научной значимости работы и носят рекомендательный характер.

Диссертация Ельченинова Александра Геннадьевича является законченной научно-квалификационной работой, в которой представлены научно обоснованные решения актуальной задачи, имеющей важное значение для поиска новых форм уникальных термофильных бактерий, изучения их метаболизма и механизмов протекания гидролитических процессов.

**Соответствие автореферата основным положениям диссертации.**

Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.

**Подтверждения опубликованных основных результатов исследования в научной печати.** Содержание диссертации в достаточной мере отражено в 8 печатных работах: 4 экспериментальных статьях и 4 тезисах и материалах международных, всероссийских конференций.

**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленном о порядке присуждения научных степеней.**  
Диссертационная работа Ельченинова Александра Геннадьевича на тему: «Метаболизм представителей филума *Planctomycetes*, обитающих в термальных экосистемах», по актуальности, новизне и значимости в полной мере отвечает требованиям, изложенным в пп. 9-14 «Положения о порядке присуждении ученых степеней», утвержденного правительством Российской Федерации 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности по специальности 1.5.11. - «Микробиология»

Отзыв на диссертацию А.Г. Ельченинова обсужден и одобрен на заседании лаборатории микробиологии ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Протокол № 10 от 30.05.2022г.).

Сведения об организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии

Сибирского отделения Российской академии наук» (ИОЭБ СО РАН). Адрес:  
670047, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.  
Тел. (3012)43-42-41, факс (3012)43-30-34, e-mail: ioeb@biol.bscnet.ru.

Заведующий лабораторией  
микробиологии  
ИОЭБ СО РАН,  
кандидат биологических наук

Старший научный сотрудник  
лаборатории микробиологии  
ИОЭБ СО РАН,  
кандидат биологических наук

Подпись заверяю  
ученый секретарь  
ИОЭБ СО РАН,  
кандидат биологических наук

Бархутова Дарима Дондоковна



Лаврентьева Елена Владимировна

Козырева Людмила Павловна