

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИСЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д001.022.03 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ» ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 19.10.2017 № 70

О присуждении Алексееву Камиллю Владимировичу, гражданину
Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярно-генетические и биохимические характеристики
цитратсинтазы, основного фермента синтеза лимонной кислоты,
промышленного продуцента *Aspergillus niger* штамм Л-4»

по специальности 03.01.04 - биохимия, биологические науки,
принята к защите 1 июня 2017 года, протокол № 68, диссертационным
советом Д001.022.03 на базе Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» 197376,
Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12 (приказ Минобрнауки РФ
№105/нк от 11.04.2012 г.).

Соискатель Алексеев Камилль Владимирович, 1989 года рождения,

В 2012 году окончил Государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования Санкт-Петербургская
химико-фармацевтическая академия по специальности «Биотехнология».

В 2016 году окончил обучение в аспирантуре Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия.

Работает в должности специалиста-биохимика по нормативной
документации в ЗАО «БИОКАД».

Диссертация выполнена на кафедре биохимии Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия.

Научный руководитель - доктор биологических наук, профессор Комов
Вадим Петрович, Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования Санкт-Петербургская химико-

фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии, профессор.

Официальные оппоненты:

1. Розенгарт Евгений Викторович, доктор биологических наук, профессор
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, лаборатория молекулярной эндокринологии и нейробиологии группы функциональной биохимии беспозвоночных, главный научный сотрудник

2. Евтушенко Владимир Иванович, доктор биологических наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Лаборатория генной инженерии, заведующий

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург в своем положительном заключении, подписанном доктором биологических наук, Софьей Юрьевной Хайтлиной, ведущим научным сотрудником Отдела клеточных культур и кандидатом биологических наук, доцентом Вандой Мариановной Седовой указала, что диссертация является законченной самостоятельной научной квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение актуальной научной задачи о возможных путях регуляции цитратсинтазы в клетках и её вкладе в механизмы феномена сверхсинтеза лимонной кислоты грибом-продуцентом *A. niger* штамм Л-4. Полученные автором результаты могут быть использованы для создания и реализации стратегии увеличения биосинтетической способности продуцента по целевому продукту, а методика определения активности цитратсинтазы в бесклеточных гомогенатах может быть использована для мониторинга жизнедеятельности и биосинтетической активности продуцента в ходе ферментации лимонной кислоты.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, все по теме диссертации, опубликовано в рецензируемых научных изданиях - 3 статьи общим объемом 0,7 печатных листа.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Алексеев, К.В. Метаболические особенности синтеза лимонной кислоты грибом *Aspergillus niger* / К.В. Алексеев, М.В. Дубина, В.П. Комов // Биотехнология. – 2014. – №5. – С. 8-18.
2. Алексеев, К.В. Молекулярно-генетические и биохимические характеристики цитратсинтазы из грибов-продуцентов лимонной кислоты вида *Aspergillus niger* / К.В. Алексеев, М.В. Дубина, В.П. Комов // Биотехнология. – 2016. – №1. – С. 11-20.

На автореферат поступили отзывы от:

Кульминской А.А. – кандидата биологических наук, заведующего лабораторией энзимологии Института ядерной физики им. Б.П.Константинова Национального центра Курчатовский институт»;

Нестерова В.П. – доктора биологических наук, профессора, заведующего Лабораторией функциональной биохимии мышц ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН.

Отзывы положительные, вопросов и замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в соответствующей сфере исследования, способностью определить научную и практическую ценность диссертации и широкой известностью своими достижениями в данной отрасли науки.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная концепция о вкладе цитратсинтазы, основного фермента синтеза лимонной кислоты, в механизм сверхсинтеза лимонной кислоты грибом *A. niger* штамм Л-4 в ферментационных условиях, и о роли изменений в экспрессии гена ее кодирующего и активности соответствующего белка в проявлении данного феномена;

предложены оригинальные суждения по заявленной тематике о возможных путях регуляции цитратсинтазы в клетке и её вкладе в механизмы феномена

сверхсинтеза лимонной кислоты промышленным грибом-продуcentом *A. niger* штамм Л-4;

доказано, что в динамике ферментационного процесса в клетках-гриба продуcentа *A. niger* уровень экспрессии гена цитратсинтазы и активность данного фермента достоверно изменяются;

введены новые представления о том, что цитратсинтаза не является абсолютно конститутивным белком в клетках гриба-продуcentа и её регуляция реализуется на транскрипционном и пост-транскрипционных уровнях;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано положение о том, что уровень экспрессии гена цитратсинтазы гриба-продуcentа *A. niger* Л-4 и её активность изменяются в ходе культивирования в условиях ферментационного процесса.

изложены доказательства наличия регуляции цитратсинтазы гриба *A. niger* штамма-продуcentа Л-4 как на уровне транскрипции так и на пост-транскрипционных уровнях;

получены существенные доказательства теории реализации путей динамического контроля цитратсинтазы гриба-продуcentа на уровне гена и на уровне белка на основании результатов биоинформатических исследований;

изучены впервые молекулярно-генетические и биохимические характеристики цитратсинтазы из отечественного штамма-продуcentа лимонной кислоты гриба *A. niger*, культивированного в условиях ферментационного процесса,

проведена модернизация существующей методики выделения и очистки нуклеиновых кислот из клеток гриба, разработана одноэтапная методика выделения и очистки белка цитратсинтазы из мицелия гриба-продуcentа посредством краситель-лигандной аффинной хроматографии;

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

разработаны и внедрены результаты апробации методики определения активности цитратсинтазы в бесклеточных гомогенатах, которая может быть использована для экспрессной оценки и мониторинга жизнедеятельности и

биосинтетической способности биомассы продуцента в ходе ферментации цитрата;

определены перспективы дальнейших изысканий в данной области: исследование ферментов гликолитического пути, цитратлиазы, альтернативной митохондриальной оксидазы посредством комплекса молекулярно-генетических, биохимических и биоинформатических подходов;

создана модель кодирующей части гена цитратсинтазы с выявленными функциональными областями, а также модель третичной структуры димера белка в двух конформациях, закрытой и открытой в зависимости от присоединенных лигандов, на основе обработанной с помощью бионформационных программных средств нуклеотидной и аминокислотной последовательностей;

представлены методические рекомендации о возможном использовании разновидности краситель-лигандной аффинной хроматографии – батч-адсорбции – для выделения и очистки цитратсинтазы из больших количеств стартового материала, мицелия гриба;

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальной работы результаты получены на сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов в разных условиях; теория построена на известных, проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментально-биохимическими данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе теории и практики;

использованы сравнения авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике;

установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по теме диссертации;

использованы адекватные методы сбора и обработки исходной информации;

Личный вклад соискателя состоит в: планировании экспериментальных исследований, анализе исходных данных, подборе источников для обзора литературы и оценке современного состояния выбранной области исследования, получении экспериментальных результатов, обработке и

интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по выполненной работе и апробации результатов на конференциях.

На заседании «19» октября 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Алексеву К.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 27 человек, из них 10 докторов наук по специальности 03.01.04 «биохимия» (5 докторов биологических наук и 5 докторов медицинских наук), участвовавших в заседании, из 35 человек, входящих в состав совета проголосовали: за - 26, против - 1, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель диссертационного совета,

Член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук, профессор



Сапронов Н.С.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор биологических наук

Хныченко Л.К.

19 октября 2017 года