

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА МГУ.015.2

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «14» марта 2023 г. № 8

О присуждении **Фокичеву Николаю Сергеевичу**, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Тромболитическая активность микромицетов рода *Tolypocladium*: скрининг продуцентов и свойства протеиназ» по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) принята к защите диссертационным советом 07.02.2023 г., протокол № 4.

Соискатель **Фокичев Николай Сергеевич**, 1993 года рождения, в 2015 году окончил специалитет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на кафедре биохимии биологического факультета по специальности 03.01.04 – «Биохимия», в 2017 году окончил межфакультетскую магистратуру по программе «Биоинженерия, биотехнология и биоэкономика» в ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по направлению 06.04.01 – «Биология».

В период с 01.10.2017 г. по 30.09.2021 г. проходил обучение в очной аспирантуре биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на кафедре микробиологии по направлению подготовки 03.01.06. – «Биотехнология». Диплом об окончании аспирантуры (№ АА 003058 рег. номер 2101-0506-0128), подтверждающий сдачу кандидатских экзаменов, выдан 31 августа 2021 г. ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова». Справка об обучении №22/171 от 02.06.2022 г., выданная ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», подтверждает сдачу кандидатского экзамена по специальности 1.5.6. Биотехнология.

В настоящее время соискатель работает в должности специалиста по интеллектуальной собственности по направлению «Биотехнология» в российской фармацевтической компании «ГК Промомед».

Диссертация выполнена на кафедре микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Научный руководитель – кандидат биологических наук **Осмоловский Александр Андреевич**, доцент кафедры микробиологии, биологического факультета ФГБОУ ВО

«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Официальные оппоненты: **Садыкова Вера Сергеевна**, доктор биологических наук, доцент, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф.Гаузе», заместитель директора по научной работе, отдел микробиологии, лаборатория таксономического изучения и коллекции культур микроорганизмов, заведующая лабораторией;

Терёшина Вера Михайловна, доктор биологических наук, ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, группа экспериментальной микологии, руководитель группы, ведущий научный сотрудник;

Белякова Галина Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра микологии и альгологии, доцент

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 7 опубликованных научных работ, в том числе 4 публикации по теме диссертации объемом 2,51 п.л., из них 3 статьи (объемом 1,57 п.л.), опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) и 1 патент РФ:

1. Fokichev N.S., Kokaeva L.Yu., Popova E.A., Kurakov A.V., Osmolovskiy A.A. Thrombolytic potential of micromycetes from the genus *Tolyposcladium*, obtained from White Sea soils: screening of producers and exoproteinases properties // *Microbiology research*. 2022. V. 13. № 4. P. 898–908. doi: 10.3390/microbiolres13040063. IF(WoS): 0.98, Q2. Вклад автора в печатных листах: (0,63/0,56) (здесь и далее в скобках приведен объем публикации в печатных листах и вклад автора в печатных листах).

2. Фокичев Н.С., Корниенко Е.И., Крейер В.Г., Шаркова Т.С., Осмоловский А.А. Тромболитическая активность и свойства препарата протеиназ, образуемых микромицетом *Tolyposcladium inflatum* k1 // *Микология и фитопатология*. 2021. Т.55. № 6. С. 449–456. doi: 10.31857/S002636482106009X. IF(РИНЦ): 0.915.(0,44/0,39).

3. Фокичев Н.С., Корниенко Е.И., Крейер В.Г., Осмоловский А.А. Исследование тромболитического потенциала экзопротеиназ, образуемых микромицетом *Tolyposcladium inflatum* б2а, выделенным из грунтов Белого моря // *Микология и фитопатология*. 2023. Т. 57. № 2. С. 95–103. doi: 10.31857/S0026364823020071. IF(РИНЦ): 0.915. (0,50/0,45).

Патент РФ:

Фокичев Н.С., Осмоловский А.А., Лукьянова А.А., Корниенко Е.И., Налобин Д.С. Способ оценки тромболитического потенциала микромицетов // Патент RU 2788697, МПК C12Q 1/37, C12N 9/50, C12N 1/14 № 2020123049, Заявл. (10.07.2020); Оpubл. (24.01.2023) (0,94/0,84).

На диссертацию и автореферат поступило 4 дополнительных отзыва, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался компетентностью в соответствующей отрасли науки и наличием публикаций в соответствующей сфере исследования: Садыкова Вера Сергеевна является ведущим специалистом в области биотехнологии и технологии получения микробных препаратов, Терёшина Вера Михайловна является ведущим специалистом в области микробиологии и биохимии микромицетов, Белякова Галина Алексеевна является ведущим специалистом в области микологии, разнообразия и экологии микроскопических грибов.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований показано, что:

Наиболее перспективным штаммом (среди семи выделенных из донных грунтов Белого моря изолятов микромицетов рода *Tolypocladium*, идентифицированных на основе анализа участка ITS1–5.8S–ITS2 рДНК), демонстрирующим тромболитические свойства и наиболее высокую специфичность в отношении фибриллярных белков при поверхностном культивировании, является штамм *Tolypocladium inflatum* 62a.

Наиболее высокая скорость роста штамма микромицета *Tolypocladium inflatum* 62a наблюдалась на органоминеральной ферментационной среде при температуре 28°C, значениях рН в интервале от 6,5 до 7,0 и солености 26‰.

Из культуральной жидкости штамма *Tolypocladium inflatum* 62a выделен препарат протеиназ, обладающий удельной протеолитической активностью, составляющей $2,3 \text{ Е/мл} \times 10^{-3}$, степенью лизиса фибринового тромба в *in vitro* модели 91%, оптимумом действия при температуре 36-37°C и рН 6,5-7,0. После изоэлектрофокусирования препарата была выделена не гликозилированная фракция, не обладающая коагулазной активностью, с изоэлектрической точкой 5,7, фибринолитической активностью 597 усл. ед./мг белка и активаторной активностью к плазминогену 413 усл. ед./мг белка.

Препарат протеиназ штамма микромицета *Tolypocladium inflatum* 62a по

сравнению с препаратом штамма-ближайшего аналога *Tolypocladium inflatum* k1, проявлял более выраженную фибринолитическую и активаторную к плазминогену активность (на 7% и 15% соответственно). Препарат протеиназ из *Tolypocladium inflatum* 62a характеризовался более высокой (на 20%) долей активаторной активности от фибринолитической и значительно более выраженным тромболитическим эффектом при аппликации препарата на фибриновом геле (до 24 ч).

Продемонстрированные выше свойства препарата протеиназ микромицета *Tolypocladium inflatum* 62a позволяют рекомендовать его для создания лекарственных средств (в т.ч. комбинированных) для тромботерапии, наружного применения или создания диагностических наборов с целью выявления патологий системы гемостаза.

Диссертационная работа Фокичева Н.С. соответствует пункту 2.1 Положения о присуждении учёных степеней в МГУ имени М.В.Ломоносова.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку:

1. Из грунтов Белого моря выделен штамм *Tolypocladium inflatum* 62a, обладающий выраженным тромболитическим потенциалом, высокой специфичностью к фибриллярным белкам при поверхностном культивировании на диагностических средах с казеином, фибрином и фибриногеном.

2. Получение препарата протеиназ *Tolypocladium inflatum* 62a рекомендуется проводить из культуральной жидкости на пятые сутки глубинного культивирования в органоминеральной ферментационной среде при температуре 28°C, pH от 6,5 до 7,0, солёности 26‰.

3. Препарат протеиназ *Tolypocladium inflatum* 62a стабилен в физиологических условиях, демонстрирует более высокую фибринолитическую и активаторную к плазминогену активность и степень лизиса фибриновых тромбов в *in vitro* модели в сравнении с препаратом штамма ближайшего аналога – почвенного микромицета *Tolypocladium inflatum* k1.

4. Для протеиназы, полученной из препарата микромицета *Tolypocladium inflatum* 62a методом изоэлектрофокусирования, показан пролонгированный во времени тромболитический эффект в отношении лизиса фибринового геля и длительное сохранение (до нескольких суток) фибринолитической активности.

На заседании 14.03.2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Фокичеву Н.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 20, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета

д.б.н., проф.

Нетрусов А.И.

Ученый секретарь

диссертационного совета, к.б.н.

Костина Н.В.

14.03.2023 г.