

Заключение диссертационного совета МГУ.015.6
по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета № 80 от «17» мая 2024 г. о присуждении **Лютовой Людмиле Владимировне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Таксономия и эволюционная генетика дрожжей *Kluyveromyces lactis*» по специальностям 1.5.18. Микология, 1.5.7. Генетика принята к защите диссертационным советом МГУ.015.6, протокол № 76 от «5» апреля 2024 г.

Соискатель **Лютова Людмила Владимировна**, 1993 года рождения, в 2017 году окончила медико-биологический факультет ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» по направлению «Биология».

С 2017 по 2021 гг. обучалась в очной аспирантуре на кафедре микологии и альгологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по специальности 03.02.12 – «Микология». Диплом об окончании аспирантуры № АА 003036 выдан в 2021 г. ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В.Ломоносова». Во время обучения сданы экзамены кандидатского минимума, в том числе кандидатский экзамен по специальности 1.5.18. Микология.

Документ, подтверждающий сдачу кандидатского экзамена по специальности 1.5.7. – «Генетика» выдан НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИГенетика в 2021 г.

На момент защиты диссертации соискатель работает в лаборатории молекулярной генетики дрожжей Центра геномных исследований «Курчатовский геномный центр» Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий в должности научного сотрудника. Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной генетики дрожжей Центра геномных исследований «Курчатовский геномный центр» Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий и на кафедре микологии и альгологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Научные руководители – доктор биологических наук, профессор, начальник лаборатории молекулярной генетики дрожжей Центра геномных исследований «Курчатовский геномный центр» Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий **Наумова Елена Сергеевна**; доктор биологических наук, старший научный сотрудник, профессор кафедры микологии и альгологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» **Шнырева Алла Викторовна**.

Официальные оппоненты:

Громовых Татьяна Ильинична – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры ХимБиоТех Факультета химической технологии и биотехнологии ФГАУ ВО

«Московский политехнический университет»;

Галкин Алексей Петрович – доктор биологических наук, доцент, директор Санкт-Петербургского филиала ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук»;

Качалкин Алексей Владимирович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры биологии почв факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет всего 11 печатных работ, в том числе по теме диссертации 4 статьи, опубликованных в рецензируемых изданиях, из них **4** статьи, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальностям 1.5.18. Микология и 1.5.7. Генетика. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Лютова Л.В.**, Наумов Г.И., Шнырева А.В., Наумова Е.С. Молекулярный полиморфизм генов β -галактозидазы *LAC4* у молочных и природных штаммов дрожжей *Kluyveromyces* // Молекулярная биология. 2021. Т. 55. № 1. С. 75–85. ИФ (РИНЦ) = 0.72 (Lyutova L.V., Naumov G.I., Shnyreva A.V., Naumova E.S. Molecular polymorphism of β -galactosidase *LAC4* genes in dairy and natural strains of *Kluyveromyces* yeasts // Molecular Biology. 2021. V. 55. № 1. P. 66–74. IF (WoS JIF 1.2) Вклад автора в печатных листах: (0.687 п.л./0.5 п.л.)

2. **Лютова Л.В.**, Наумова Е.С. Межштаммовая гибридизация дрожжей *Kluyveromyces lactis* для создания штаммов, активно сбраживающих лактозу // Биотехнология. 2021. Т. 37. № 4. С. 41–48. ИФ (РИНЦ) = 0.39 (Lyutova L.V., Naumova E.S. Inter-strain hybridization of *Kluyveromyces lactis* yeast for creating efficient lactose-fermenting strains // Applied Biochemistry and Microbiology. 2022. V. 58. P. 909–915. IF (WoS JIF 0.8) (0.5 п.л./0.375 п.л.)

3. **Лютова Л.В.**, Наумов Г.И., Шнырёва А.В., Наумова Е.С. Внутривидовой полиморфизм дрожжей *Kluyveromyces lactis*: генетические популяции // Микробиология. 2022. Т. 91. № 4. С. 480–491. ИФ (РИНЦ) = 1.052 (Lyutova L.V., Naumov G.I., Shnyreva A.V., Naumova E.S. Intraspecific polymorphism of the yeast *Kluyveromyces lactis*: genetic populations // Microbiology. 2022. V. 91. № 4. 421–431. IF (WoS JIF 1.5) (0.75 п.л./0.562 п.л.)

4. **Лютова Л.В.**, Наумова Е.С. Сравнительный анализ сбраживания лактозы и её компонентов, глюкозы и галактозы, межштаммовыми гибридами молочных дрожжей *Kluyveromyces lactis* // Биотехнология. 2023. Т. 39. № 1. С. 3–11. ИФ (РИНЦ) = 0.39 (Lyutova L.V., Naumova E.S. Comparative analysis of fermentation of lactose and its components, glucose and galactose, by interstrain hybrids of dairy yeast *Kluyveromyces lactis* // Applied Biochemistry and Microbiology. 2023. V. 59. № 9. P. 1150–1156. IF (WoS JIF 0.8) (0.562 п.л./0.437 п.л.)

На автореферат поступило **6 дополнительных отзывов**, отзывы положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался близостью их научных интересов к теме диссертации, наличием значительного числа публикаций в соответствующей сфере исследования, высоким уровнем профессионализма и отсутствием формальных препятствий к оппонированию.

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 сложное строение комплексного вида *K. lactis* и подтверждена правильность выделения сбраживающих лактозу штаммов в отдельную разновидность *K. lactis var. lactis*;

- впервые установлено, что физиологическая разновидность *K. lactis var. drosophilaram* гетерогенна и представлена шестью генетически изолированными популяциями («*drosophilaram*», «*phaseolosporus*», «*krassilnikovii*», «*pseudovanudenii*», «водная» и «восточная») в статусе таксономических разновидностей;

- обнаружено, что на основании нуклеотидных последовательностей гена актина *ACT1* можно достоверно дифференцировать разновидность дрожжей *K. lactis var. lactis* и шесть природных генетических популяций в пределах вида *K. lactis*;

- установлено, что у дрожжей *K. lactis var. lactis* способность ферментировать лактозу контролируется тремя полимерными локусами *LAC* различной хромосомной локализации: *LAC1* (хромосома III), *LAC2* (хромосома II) и *LAC3* (хромосома IV);

- с помощью филогенетического и рекомбинационного анализов впервые установлено сложное строение локуса *LAC3*, включающего кластер генов *LAC4–LAC12* (гены β-галактозидазы и пермеазы лактозы);

- с помощью филогенетического анализа выявлены значительные различия между белками *LAC4* и *LAC12* дрожжей рода *Kluyveromyces*: *K. lactis*, *K. marxianus*, *K. aestuarii*, *K. nonfermentans*, *K. wickerhamii*;

- обнаружена корреляция между последовательностями β-галактозидаз/пермеаз и экологическим происхождением штаммов *Kluyveromyces*: молочные продукты и природные источники;

- с помощью межвидовой гибридизации впервые продемонстрирована возможность переноса кластера лактозных генов *LAC4–LAC12* из молочного штамма *K. marxianus* в геном европейского природного Lac^- штамма *K. lactis* популяции «*krassilnikovii*».

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Полученные соискателем данные имеют важное значение для понимания систематики и эволюции дрожжей *K. lactis*. С помощью различных молекулярных методов и классического гибридологического анализа впервые проведено таксономическое изучение дрожжей *K. lactis* на материале штаммов различного экологического и географического происхождения. Установлен сложный состав вида *K. lactis*, который включает культурные дрожжи *var. lactis* и шесть природных популяций: «*drosophilaram*», «*phaseolosporus*», «*krassilnikovii*», «*pseudovanudenii*», «водная» и «восточная» в статусе таксономических разновидностей. Впервые получена информация о молекулярных кариотипах генетических популяций *K. lactis* и установлено, что все они имеют одинаковое гаплоидное число

хромосом, равное шести.

Сравнительный филогенетический анализ β-галактозидаз и пермеаз лактозы свидетельствует об общем происхождении локусов *LAC* молочных штаммов *K. lactis* var. *lactis* и *K. marxianus*. С помощью межвидовой гибридизации продемонстрирован возможный путь переноса лактозного кластера *LAC4–LAC12* из молочного штамма *K. marxianus* в геном природного *Lac⁻* штамма *K. lactis* популяции «krassilnikovii».

Значение полученных соискателем результатов для практики.

Рекомендовано использовать молекулярный маркер *ACT1* для достоверной идентификации и дифференциации внутривидовых популяций в пределах вида *K. lactis*.

Показано, что межштаммовая гибридизация является перспективным методом создания молочных штаммов *Kluyveromyces*, способных активно ферментировать лактозу. Отобраны межштаммовые гибриды *K. lactis* var. *lactis* и молочные штаммы вида *K. marxianus*, обладающие наибольшей ферментационной активностью и представляющие интерес для молочной промышленности России.

Создана коллекция охарактеризованных молекулярными методами молочных и природных штаммов дрожжей *K. lactis*, которая может быть использована в фундаментальных и прикладных исследованиях.

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. Физиологическая разновидность *K. lactis* var. *drosophilorum* гетерогенна и представлена шестью генетически изолированными популяциями: «drosophilorum», «phaseolosporus», «krassilnikovii», «pseudovanudenii», «водная» и «восточная». На основании нуклеотидных последовательностей гена *ACT1* можно достоверно дифференцировать все популяции в пределах вида *K. lactis*.

2. У дрожжей *K. lactis* var. *lactis* способность ферментировать лактозу контролируется тремя полимерными локусами *LAC* различной локализации: *LAC1* (хромосома III), *LAC2* (хромосома II) и *LAC3* (хромосома IV). Филогенетический анализ выявил значительные различия между белками *LAC4* и *LAC12* видов рода *Kluyveromyces* и последовательностями этих ферментов у дрожжей других родов.

3. Локусы *LAC* имеют общее происхождение у молочных дрожжей видов *K. lactis* и *K. marxianus*. Доместикация молочных дрожжей *K. lactis* var. *lactis*, по-видимому, произошла на основе приобретения генного кластера *LAC4-LAC12* от молочных штаммов *K. marxianus*. Наиболее вероятным реципиентом лактозного кластера были природные европейские штаммы популяции «krassilnikovii».

4. Межштаммовая гибридизация молочных дрожжей *K. lactis* var. *lactis* является

эффективным методом создания перспективных производственных штаммов, способных активно сбраживать лактозу.

На заседании «17» мая 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить **Лютовой Людмиле Владимировне** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **23** человек, из них **6** докторов наук по специальности 1.5.18. Микология и **3** доктора наук по специальности 1.5.7. Генетика, участвовавших в заседании, из **32** человек (дополнительно введены на разовую защиту **3** человека), входящих в состав совета, проголосовали:

«ЗА» – **23**, «ПРОТИВ» – **0**, недействительных бюллетеней – **0**.

Председатель
диссертационного совета

Ильинский В.В.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Гершкович Д.М.

«17» мая 2024 г.