

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА МГУ.015.2

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «06» июня 2023 г. № 22

О присуждении **Климко Алёне Игоревне**, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Адаптация пробиотической молочнокислой бактерии *Lactocaseibacillus rhamnosus* КМ МГУ 529 к росту в аэробных условиях» по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) принята к защите диссертационным советом 24.04.2023 г., протокол № 17.

Соискатель Климко Алёна Игоревна, 1992 года рождения, в 2015 году окончила бакалавриат ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на кафедре микробиологии биологического факультета по направлению 06.04.01 – «Биология», в 2017 году окончила магистратуру на кафедре микробиологии биологического факультета 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. проходила обучение в очной аспирантуре биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на кафедре микробиологии по направлению подготовки 06.06.01. – «Биологические науки». Диплом об окончании аспирантуры (№ АА 003031 рег. номер 2101-0506-0101), подтверждающий сдачу кандидатских экзаменов, выдан 31 августа 2021 г. ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова». Справка об обучении №22/170 от 02.06.2022 г., выданная ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», подтверждает сдачу кандидатского экзамена по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология (биологические науки).

В настоящее время соискатель находится в поиске нового места работы.

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

Научные руководители – доктор биологических наук, профессор **Петрусов Александр Иванович**, профессор кафедры микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» и

кандидат биологических наук, доцент **Брюханов Андрей Леонидович**, старший научный сотрудник кафедры микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Официальные оппоненты:

Градова Нина Борисовна, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», факультет биотехнологии и промышленной экологии, кафедра биотехнологии, ведущий научный сотрудник;

Полуэктова Елена Ульриховна, доктор биологических наук, ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук», отдел генетических основ биотехнологии, лаборатория генетики микроорганизмов, главный научный сотрудник;

Николаев Юрий Александрович, доктор биологических наук, ФГУ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Институт микробиологии имени С.Н. Виноградского, лаборатория выживаемости микроорганизмов, заведующий лабораторией

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 6 опубликованных научных работ, в том числе 5 публикаций по теме диссертации объемом 3,06 п.л., из них 5 статей (объемом 3,06 п.л.), опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.6. Биотехнология (биологические науки):

1. Dinarieva T.Yu., **Klimko A.I.**, Kahnt J., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Adaptation of *Lacticaseibacillus rhamnosus* CM MSU 529 to aerobic growth: a proteomic approach // *Microorganisms*. 2023. Vol. 11. № 2. P. 313–327. DOI: 10.3390/microorganisms11020313. IF (SJR) = 0,862. Q2. Вклад автора в печатных листах: (0,88/0,31) (здесь и далее в скобках приведен объем публикации в печатных листах и вклад автора в печатных листах).

2. Динариева Т.Ю., **Климко А.И.**, Чердынцева Т.А., Брюханов А.Л., Нетрусов А.И. Витамин K₂ является медиатором транспорта электронов от НАДН-дегидрогеназы 2 к хинолоксидазе *bd*-типа у *Lacticaseibacillus rhamnosus* КМ МГУ 529 // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2022. Т. 77. № 3. С. 188–194. IF РИНЦ = 0,630. [Dinarieva T.Yu., **Klimko A.I.**, Bryukhanov A.L., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Vitamin K₂ mediates electron transport from NADH dehydrogenase 2 to *bd*-type quinol

oxidase in *Lactocaseibacillus rhamnosus* CM MSU 529 // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2022. Vol. 77. № 3. P. 172–177. DOI: 10.3103/S0096392522030038. IF (SJR) = 0,189]. Q3. (0,38/0,17)

3. Брюханов А.Л., **Климко А.И.**, Нетрусов А.И. Антиоксидантные свойства молочнокислых бактерий // Микробиология. 2022. Т. 91. № 5. С. 519–536. EDN: ZBTXFD DOI: 10.31857/S0026365622100329. IF РИНЦ = 1,550 [Bryukhanov A.L., **Klimko A.I.**, Netrusov A.I. Antioxidant properties of lactic acid bacteria // Microbiology. 2022. Vol. 91. № 5. P. 463–478. DOI: 10.1134/s0026261722601439. IF (SJR) = 0,341]. Q3-Q4. (1,06/0,53)

4. **Климко А.И.**, Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И., Брюханов А.Л. Ингибирование автоокисления аскорбата новыми штаммами молочнокислых бактерий // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2021. Т. 76. № 4. С. 278–282. IF РИНЦ = 0,630 [**Klimko A.I.**, Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I., Bryukhanov A.L. Inhibition of ascorbate autoxidation by new strains of lactic acid bacteria // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2021. Vol. 76. № 4. P. 249–252. DOI: 10.3103/S0096392521040052. IF (SJR) = 0,189]. Q3. (0,18/0,15)

5. **Klimko A.I.**, Cherdyntseva T.A., Bryukhanov A.L., Netrusov A.I. *In vitro* evaluation of probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains // Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2020. Vol. 12. № 3. P. 1139–1148. DOI: 10.1007/s12602-019-09599-6. IF (SJR) = 0,812. Q2. (0,56/0,39)

На диссертацию и автореферат поступило 3 дополнительных отзыва, все положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался компетентностью в соответствующей отрасли науки и наличием публикаций в соответствующей сфере исследования: Градова Нина Борисовна является ведущим специалистом кафедры биотехнологии. Её работы посвящены изучению пробиотических микроорганизмов, способам их культивирования, а также различным аспектам биотехнологических производств. Полуэктова Елена Ульриховна является ведущим специалистом в области генетики микроорганизмов. Работы Полуэктовой Е.У. направлены на изучение молочнокислых бактерий, их антиоксидантных свойств, а также на исследование микробиоты человека в целом. Николаев Юрий Александрович является ведущим специалистом в области изучения биоплёнок. Его работы посвящены изучению разнообразных механизмов биопленкообразования у микроорганизмов, входящих в состав различных биотопов.

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:

Для изучения адаптации к аэробному росту в результате скрининга пробиотических свойств из 33 представителей МКБ был выбран штамм *L. rhamnosus* КМ МГУ 529. Данный микроорганизм обладает выраженной способностью к биоплёнкообразованию и относительно высокой антимикробной активностью по отношению к *S. aureus*.

У восьми представителей молочнокислых бактерий из коллекции кафедры микробиологии МГУ с помощью сконструированных вырожденных ПЦР-праймеров были обнаружены гены антиоксидантной защиты, кодирующие супероксиддисмутазу, каталазу, гемовую пероксидазу и пероксиредоксин. Во фракциях клеток *Lp. plantarum* КМ МГУ 161 и *L. rhamnosus* КМ МГУ 529 были измерены активности соответствующих ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы, каталазы, а также общая пероксидазная активность.

При аэробном культивировании в периодической культуре на питательной среде MRS у *L. rhamnosus* КМ МГУ 529 не снижалась активность роста. Установлены возможные механизмы адаптации к аэробному росту данного штамма на основании данных протеомного анализа: перестройка углеродного метаболизма, индукция синтеза флавиновых оксидаз, образующих H_2O_2 , и ферментов, участвующих в его детоксикации, индукция синтеза стрессовых белков. Повышение уровня ферментов пути синтеза *de novo* пиримидиновых нуклеотидов у МКБ в ответ на аэриоз было показано впервые.

У *L. rhamnosus* КМ МГУ 529 функционирует дыхательная цепь, состоящая из НАДН-дегидрогеназы 2, менахинона и хинолоксидазы *bd* при росте в присутствии гемина и менахинона. Впервые продемонстрирована способность экзогенного менахинона *in vitro* переносить электроны от НАДН-дегидрогеназы 2 к хинолоксидазе *bd* у МКБ.

Выход биомассы *L. rhamnosus* КМ МГУ 529 увеличивался в дыхательных условиях на 27%, по сравнению со статичным и аэробным ростом. Одновременно с этим молярный экономический коэффициент $Y_{P/S}$ был близок по значению к таковому в условиях статичного роста.

Диссертационная работа Климко А.И. 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. Молочнокислые бактерии из коллекции кафедры микробиологии МГУ обладают пробиотическими свойствами, выраженными в разной степени и имеющими штаммоспецифичный характер. К этим пробиотическим свойствам относятся: адгезия, способность к образованию биоплёнок, антимикробная, а также антиоксидантная активности с участием супероксиддисмутазы, каталазы и различных пероксидаз.

2. *L. rhamnosus* КМ МГУ 529 при аэробном культивировании в присутствии гемина и менахинона (в дыхательных условиях) реализует дыхательный метаболизм с увеличением выхода биомассы на 27%. Электрон-транспортная цепь данного штамма состоит из НАДН-дегидрогеназы 2, менахинона и хинолоксидазы *bd*, характеризуется высокой НАДН-оксидазной и хинолоксидазной активностями.

3. В присутствии кислорода у *L. rhamnosus* КМ МГУ 529 происходит перестройка углеродного метаболизма, индукция биосинтеза флавиновых оксидаз, ферментов, участвующих в детоксикации активных форм кислорода, стрессовых белков, ферментов пути синтеза *de novo* пиримидиновых нуклеотидов, что демонстрирует высокую степень адаптации данной лактобациллы к присутствию кислорода.

На заседании 06.06.2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Климко А.И. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.11. Микробиология и 5 докторов наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 23, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя

диссертационного совета

д.б.н., проф.

Умарова А.Б.

Ученый секретарь

диссертационного совета, к.б.н.

Костина Н.В.

06.06.2023 г.