

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА МГУ.015.2

по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

Решение диссертационного совета от «12» декабря 2023 г. № 41

О присуждении **Кислицину Валерию Юрьевичу**, гражданину Республики Казахстан, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль транскрипционных факторов в биосинтезе целлюлаз мицелиального гриба *Penicillium verruculosum*» по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки) принята к защите диссертационным советом 31.10.2023 г., протокол № 35.

Соискатель **Кислицин Валерий Юрьевич**, 1993 года рождения, в 2017 году окончил магистратуру Факультета биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби по специальности Биотехнология. В период подготовки диссертации с 19.09.2018г. по 19.09.2021г. Кислицин В. Ю. обучался в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН) по специальности 1.5.6. «Биотехнология», а также работал в Лаборатории биотехнологии ферментов Института биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН в должности младшего научного сотрудника с 08.10.2018г. по настоящее время. Диплом об окончании аспирантуры 107705 0013386, подтверждающий сдачу кандидатских экзаменов, выдан в 2021 г. ФИЦ Биотехнологии РАН. Экзамен по специальности 1.5.6. «Биотехнология» сдан 09.03.2023г., о чём ФИЦ Биотехнологии РАН выдана справка №68-1 от 10 марта 2023 года.

В настоящее время соискатель работает в должности младшего научного сотрудника в Лаборатории биотехнологии ферментов Института биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории Биотехнологии ферментов Института биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН.

Научный руководитель – кандидат химических наук **Рожкова Александра Михайловна**, старший научный сотрудник Лаборатории биотехнологии ферментов Института биохимии им. А.Н. Баха ФИЦ Биотехнологии РАН.

Официальные оппоненты:

Швядас Витаутас-Юозапас Каятоно, доктор химических наук, профессор,

профессор факультета биоинженерии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»;

Допова Марина Викторовна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией микробиологической трансформации органических соединений отдела аналитической биохимии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина» ФГБУН «ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований» Российской академии наук»;

Лавров Константин Валерьевич, кандидат биологических наук, начальник лаборатории молекулярной биотехнологии Курчатовского комплекса нано-, био-, инфо-, когнитивных и социогуманитарных наук и природоподобных технологий ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 10 опубликованных научных работ, в том числе 7 публикаций по теме диссертации, из них 7 статей (объемом 8,75 п.л.), опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки):

1. Чулкин А.М., **Кислицин В.Ю.**, Зоров И.Н., Синицын А.П., Рожкова А.М. Определение копийности целевых генов карбогидраз в рекомбинантных штаммах гриба *Penicillium verruculosum* // Биотехнология. – 2019. – Т. 35. – № 5. – С.51-57. <http://dx.doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-5-51-57> (SJR IF 0.65, Q 2; РИНЦ 0.426) Вклад автора в печатных листах: (0.875/0.2625) (здесь и далее в скобках приведен объем публикации в печатных листах и вклад автора в печатных листах).

2. **Кислицин В.Ю.**, Чулкин А.М., Синельников И.Г., Синицын А.П., Рожкова А.М. Экспрессия нуклеазы Cas9 комплекса CRISPR/Cas системы редактирования генома мицелиальном грибе *Penicillium verruculosum* // Вестн. Моск. ун-та. сер. 2. Химия. - 2020. – Т. 61. – № 4. – С. 47 – 54. (РИНЦ 0.632) [**Kislitsin, V.Y.**, Chulkin, A.M., Sinelnikov, I.G., Sinitsyn, A.P., Rozhkova, A.M. Expression of Cas9 Nuclease of the CRISPR/Cas Genome Editing System in the Filamentous Fungus *Penicillium verruculosum*. Moscow University Chemistry Bulletin. – 2020. – Т. 75. - № 4. – С. 243–249. <https://doi.org/10.3103/S0027131420040033> (SJR IF 0.17, Q 4)] (0.875/0.65625)

3. Рожкова А.М., **Кислицин В.Ю.** Редактирование геномов мицелиальных грибов: применение системы CRISPR/Cas // Успехи биологической химии. – 2021. – Т. 61, - С.253-294. [**Rozhkova, A.M.**, **Kislitsin, V.Y.** CRISPR/Cas Genome Editing in Filamentous Fungi // *Biochemistry (Moscow)* – 2021. – Vol. 86. – P. S120–

S139.<https://doi.org/10.1134/S0006297921140091> (Scopus IF 2. 849; SJR IF 0.65, Q2)]. (2.5/1.25)

4. **Кислицин В.Ю.**, Чулкин А.М., Зоров И.Н., Шашков И.А., Сатрутдинов А.Д., Синицын А.П., Рожкова А.М. Влияние моно- и олигосахаридов на транскрипцию гена *cbh1* в мицелиальном грибе *Penicillium verruculosum* // Биотехнология. – 2021. – Т. 37. – № 1. – С. 45-53. DOI: 10.21519/0234-2758-2021-37-1-45-53 (IF SJR 0.65, Q 2; РИНЦ 0.426) [**Kislitsin V.Y.**, Chulkin, A.M., Zorov I.N., Sinitsyn A.P., Rozhkova A.M. Influence of mono- and oligosaccharides on *cbh1* gene transcription in the filamentous fungus *Penicillium verruculosum* // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2021. – Т. 57. № 9. – С. 925–932. <https://doi.org/10.1134/S0003683821090040> (Scopus IF 1.082 SJR IF 0.247, Q3)] (1/0.5)

5. **Kislitsin V.Yu.**, Chulkin A.M., Zorov I.N., Denisenko Y.A., Sinitsyn A.P., Rozhkova A.M. The effect of cellobiohydrolase 1 gene knockout for composition and hydrolytic activity of the enzyme complex secreted by filamentous fungus *Penicillium verruculosum* // Biores. Technol. Rep. – 2022. – Vol. 18. – P. 101023. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101023> (Scopus IF 4.817; SJR IF 0.85, Q2) (1/0.8)

6. **Кислицин В.Ю.**, Чулкин А.М., Зоров И.Н., Синельников И.Г., Синицын А.П., Рожкова А.М. Функция транскрипционного фактора XlnR у мицелиального гриба *Penicillium verruculosum* // Биотехнология. – 2022. – Т. 38. – №6. – С. 29–39. DOI:10.56304/S0234275822060084 (SJR IF 0.65, Q 2; РИНЦ 0,426) (1.375/1.03125)

7. Чулкин А.М., **Кислицин В.Ю.**, Зоров И.Н., Шашков И.А., Рожкова А.М. Влияние нокаута транскрипционного фактора TacA на транскрипцию и экспрессию гена *cbhI* в штамме мицелиального гриба *Penicillium verruculosum* // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2023. – Т. 64. – №. 2. – С.121-129. DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2023-64-2-121-129 (РИНЦ 0.632) [Chulkin, A.M., Kislitsin, V.Y., Zorov, I.N., Shashkov, I.A., Rozhkova, A.M. The effect of the TacA knockout transcription factor on the *cbhI* gene transcription and expression in the filamentous fungus strain *Penicillium verruculosum* // Moscow University Chemistry Bulletin. – 2023. – Vol. 78. – № 1. – P. 35–41. <https://doi.org/10.3103/S0027131423010029> (SJR IF 0.17, Q 4)] (1.125/0.675)

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: Швядас Витаутас-Юозапас Каятоно является ведущим специалистом в области химической энзимологии, Донова Марина Викторовна – ведущий специалист в

области микробиологии и биотехнологии микроорганизмов, Лавров Константин Валерьевич является ведущим специалистом в области синтетической биологии и метаболической инженерии микроорганизмов.

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:

транскрипционные факторы Clr1, Clr2, XlnR являются позитивными регуляторами транскрипции основных целлюлаз в мицелиальном грибе *Penicillium verruculosum*. При этом конститутивная экспрессия генов *clr1* и *clr2* при культивировании гриба на ферментационной среде приводит к увеличению β -глюкозидазной активности в 4 и 2 раза, соответственно, а конститутивная экспрессия гена *xlnR* к увеличению ксиланазной активности в 3,8 раза и β -глюкозидазной в 2 раза.

Транскрипционный фактор TасА является негативным регулятором транскрипции целлюлаз и его нокаут повышает относительный уровень транскрипции генов целлобиогидролазы 1 и β -глюкозидазы при индуцировании их транскрипции ди- и трисахарами: целлобиозой, целлотриозой и гентиобиозой. При культивировании штамма *P. verruculosum* с нокаутом гена *tacA* в стандартных ферментационных условиях максимальная активность ферментного комплекса достигается к 96 ч культивирования, против 144 ч у исходного штамма, что на треть сокращает продолжительность ферментации.

Штамм *P. verruculosum* с нокаутом гена *tacA* является перспективной платформой для создания рекомбинантных продуцентов нового поколения с улучшенными гидролитическими характеристиками по сравнению с ранее полученными штаммами, что было продемонстрировано при получении серии продуцентов гидролитических ферментных препаратов, обогащённых β -глюкозидазой *Aspergillus niger*.

Диссертационная работа Кислицина В. Ю. 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. Адаптирована методика направленного редактирования генома мицелиального

гриба *P. verruculosum* B1-221-151 с использованием технологии CRISPR-Cas9, что позволило проводить нокаут маркерного гена *niaD*, кодирующего нитратредуктазу, с одновременным нокаутом целевого гена.

2. Транскрипционные факторы Clr1, Clr2 и XlnR активируют транскрипцию генов основных целлюлаз у мицелиального гриба *P. verruculosum*.

3. Транскрипционный фактор TacA является негативным регулятором транскрипции генов целлюлаз в мицелиальном грибе *P. verruculosum*, а его нокаут приводит к достижению максимальной ферментативной активности секретируемого комплекса к 96 ч культивирования.

4. На основе штамма *P. verruculosum* с нокаутом гена *tacA* получен продуцент гидролитического ферментного препарата, обогащённого β-глюкозидазой *A. niger*, имеющий увеличенную в 1,5 раза гидролитическую активность (по отношению к микрокристаллической целлюлозе) по сравнению с ферментным препаратом, полученным на основе исходного штамма.

На заседании 12.12.2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Кислицину В.Ю. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 26 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, 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.

12.12.2023 г.