

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 1.03.2019 г. № 6

О присуждении Макрушину Кириллу Валерьевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «L-лизин- α -оксидаза гриба *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D» по специальности 03.02.03 – Микробиология принята к защите 24.12.2018 г. протокол № 21 диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании № 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Макрушин Кирилл Валерьевич 1982 года рождения, в 2006 г. окончил биологический факультет государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского» по специальности «Биология». В 2008 г. он окончил магистратуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки высшего профессионального образования «Пушкинский государственный университет» с присуждением степени магистра биологии по направлению «Биология». Макрушин К.В. обучался в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» Российской академии наук по направлению 03.02.03 –

«Микробиология» в 2008-2011 гг., работал в период выполнения диссертационного исследования в должности инженера в лаборатории адаптации микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории адаптации микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» Российской академии наук, впоследствии присоединенного к Федеральному исследовательскому центру «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук».

Научный руководитель – Аринбасарова Анна Юрьевна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» Российской академии наук Федерального исследовательского центра «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», лаборатория адаптации микроорганизмов, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

Садыкова Вера Сергеевна, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе» Федерального агентства научных организаций, лаборатория химического изучения биологически активных соединений микробного происхождения, зам. директора по научной работе;

Мысякина Ирина Сергеевна, доктор биологических наук, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», группа экспериментальной микологии, ведущий научный сотрудник дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности» Российской академии наук, г. Санкт-Петербург, в своем положительном заключении, подписанном Медведевой Надеждой Григорьевной, доктором технических наук, лаборатория биологических методов экологической безопасности, заведующая, указала, что диссертация К.В. Макрушина является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена задача получения фермента L-лизин- α -оксидазы грибов рода *Trichoderma*, перспективного препарата для энзимотерапии опухолей, имеющая существенное значение для микробиологии, вносит значительный вклад в изучение процессов биосинтеза других оксидаз аминокислот, а также в понимание функциональной роли фермента для гриба-продуцента. По своей научной новизне и практической значимости диссертационная работа соответствует критериям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», установленного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями Постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор - Макрушин Кирилл Валерьевич - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, в том числе **4** статьи в рецензируемых научных изданиях, входящих в международные базы цитирования. Вклад соискателя в проведение исследований, результаты которых опубликованы в работах, является основным.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Макрушин, К.В.** Поиск продуцентов L-лизин- α -оксидазы среди грибов рода *Trichoderma* / **К.В. Макрушин**, А.Ю. Аринбасарова, Н.И. Чигинёва, Е.В. Лукашёва, А.Г. Меденцев, Т.Т. Березов // **Биотехнология**. – 2011. – № 5. – С. 44-49. Импакт-фактор РИНЦ - 1,636.

2. Аринбасарова, А.Ю. Образование внеклеточных H_2O_2 и L-лизин- α -оксидазы в процессе глубинного роста гриба *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D при солевом стрессе / А.Ю. Аринбасарова, **К.В. Макрушин**, А.Г. Меденцев, Е.В. Лукашева, Т.Т. Березов // **Микробиология**. – 2012. – Т. 81. – № 6. – С. 741-744. Импакт-фактор РИНЦ - 1,45.

4. **Макрушин, К.В.** Синтез L-лизин- α -оксидазы грибами *Trichoderma* в условиях глубинного культивирования / **К.В. Макрушин**, А.Ю. Аринбасарова, Е.В. Лукашева, А.Г. Меденцев, Т.Т. Березов // **Биотехнология**. – 2012. – № 4. – С. 39-44. Импакт-фактор РИНЦ - 1,636.

5. Аринбасарова, А.Ю. Выделение и свойства L-лизин- α -оксидазы из гриба *Trichoderma cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D / А.Ю. Аринбасарова, В.В. Ашин, **К.В. Макрушин**, А.Г. Меденцев, Е.В. Лукашева, Т.Т. Березов // **Микробиология**. – 2012. – Т. 81. – № 5. – С. 594-599. Импакт-фактор РИНЦ - 1,45.

На диссертацию и автореферат поступили **4** положительных отзыва без замечаний от: (1) д-ра биол. наук **Корыстова Юрия Николаевича**, г.н.с., зав. лабораторией окислительного стресса ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук, г. Пущино; (2) д-ра биол. наук **Шелудько Андрея Вячеславовича**, в.н.с. лаборатории генетики микроорганизмов ФГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов» Российской академии наук, г. Саратов; (3) канд. мед. наук, доцента **Коробова Владимира Павловича**, зав. лабораторией биохимии развития микроорганизмов, и д-ра биол. наук **Куюкиной Марии Станиславовны**, в.н.с. лаборатории алканотрофных микроорганизмов ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии» Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии, г. Пермь; (4) канд. физ.-мат. наук **Ботина Александра Сергеевича**, с.н.с. научной лаборатории экспериментальной патологии ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва. В отзывах отмечена актуальность проведенных исследований и ценность полученных данных, авторы всех

отзывов считают соискателя заслуживающим присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что:

доктор биологических наук, доцент **Садыкова Вера Сергеевна** является ведущим специалистом в сфере микробиологии, биохимии и экологии грибов рода *Trichoderma*, имеет научные публикации, соответствующие кандидатской диссертации Макрушина К.В. (**Микол. Фитопатол.** - 2018. - Т.52. - № 3. - С. 180 – 186; **Fibers.** - 2018. -V.6. - P.2-11; **Изв. Акад. Наук. Сер. Хим.** -2018. - № 4. - С.757 – 761; **Appl. Biochem. Microbiol.** - 2018. - Vol. 54. - № 5. – P. 496-500; **Антиб. Химиотер.** - 2018. -Т. 63. - № 4. - С. 3-7; 2017. - Т 62. - № 9-10. - С.34-39; **Прикл. Биохим. Микробиол.** – 2017. - Т. 53. – С. 616–624; 2017. -Т. 53. – С. 616–624);

доктор биологических наук **Мысякина Ирина Сергеевна** является компетентным специалистом в микробиологии и биохимии мицелиальных грибов, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующих кандидатской диссертации Макрушина К.В. (**Микробиол.** - 2018. - Т. 87. - № 1. - С. 42-49; 2018. - Т. 87. - № 5. - С. 595-598; 2016. - Т. 85. - № 3. - С. 269-274; 2015. - Т. 84. - № 2. - С. 204; **Прикл. Биохим. Микробиол.** - 2016. - Т. 52. - № 6. - С. 559-569; 2015. - Т. 51. - № 3. - С. 335; **Изв. Уфимск. Науч. Центра Рос. Акад Наук.** - 2016. - № 3-1. - С. 143-145).

Назначение **ведущей организации** обосновано широкой известностью и опытом в научных исследованиях мицелиальных грибов, а также компетентностью в изучении сообществ микроорганизмов, подтвержденной публикациями работ в научных журналах (**Микол. фитопатол.** - 2018. - Т. 52. - № 2. - С. 134-143; 2016. - Т.50, вып.2. - С. 124-129; 2015. - Т.49, вып.4, - С.242-248; **J. Marin. Syst.** - 2017. - V.171, - P. 111–119; 2017. - Vol.171. – P. 120-128; **Fibr. Chem** - 2015. - Vol. 47. - № 4. - P. 324-328; **Inland Water Biol.** - 2015. - Vol. 8. - № 4. - P. 406-413).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана технология наработки и получения гомогенного препарата L-лизин- α -оксидазы гриба *Trichoderma* cf. *aureoviride* Rifai VKM F-4268D;

предложены два метода очистки фермента: один из них базируется на общепринятых (рутинных) подходах; второй – оригинальный метод,

основанный на осаждении L-лизин- α -оксидазы из культуральной жидкости солями Cu^{2+} ;

доказано, что L-лизин- α -оксидаза штамма *T. cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D характеризуется высокой активностью, низкой энергией активации, высокой селективностью и стереоспецифичностью, высоким сродством к L-лизину, стабильностью;

введены представления, характеризующие функциональную роль фермента L-лизин- α -оксидазы для продуцента *Trichoderma*, а также в экологической системе «Растение – *Trichoderma* – Патоген».

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказан эффективный синтез фермента L-лизин- α -оксидазы в процессе роста грибов рода *Trichoderma* на субстратах из семян различных злаковых растений;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных микробиологических (культивирование микроорганизмов, скрининг продуцентов фермента L-лизин- α -оксидазы, оптимизация процессов биосинтеза в лабораторных условиях на колбах и в биореакторах, изучение антимикробного действия фермента L-лизин- α -оксидазы диск-диффузионным методом), биохимических (изучение физико-химических свойств, термодинамических и кинетических характеристик фермента, а также его стабильности при хранении, к действию детергентов, мочевины, протеаз и температуры) и биотехнологических (выбор оптимальных условий биосинтеза фермента L-лизин- α -оксидазы, выделение фермента) методов исследования;

изложены факторы, предопределяющие возможную функциональную роль фермента L-лизин- α -оксидазы - биосинтез фермента сопровождается накоплением в среде роста пипеколиновой кислоты и пероксида водорода – элиситоров системной устойчивости растений;

раскрыты механизмы антимикробного действия фермента L-лизин- α -оксидазы как фактора конкуренции гриба *Trichoderma* с грамотрицательными и грамположительными бактериями, а также фитопатогенными грибами;

изучены ферментативные свойства фермента L-лизин- α -оксидазы, установлены молекулярная масса, количество и масса субъединиц, кофермент, оптимумы pH и температуры, определены кинетические характеристики фермента с учетом аллостерических эффектов (коэффициент Хилла и константа Михаэлиса-Мэнтен), селективность и стереоспецифичность.

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

разработан лабораторный регламент получения фермента L-лизин- α -оксидазы из *T. cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D – учрежденческий уровень внедрения;

определены свойства гомогенного препарата фермента L-лизин- α -оксидазы штамма *T. cf. aureoviride* Rifai ВКМ F-4268D: высокая активность и стабильность, узкая субстратная специфичность и высокое сродство к лизину;

представлены результаты лабораторных испытаний, демонстрирующие возможность использования препарата L-лизин- α -оксидазы в медицинских исследованиях, направленных на разработку лекарственных средств для терапии онкологических заболеваний, а также для создания биохимических тестов для определения лизина.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты экспериментальных работ были получены на сертифицированном оборудовании; показана воспроизводимость результатов исследования в разных условиях, задействованы современные микробиологические, биохимические и биотехнологические методы исследования;

полученные данные согласуются с опубликованными в зарубежных рецензируемых научных изданиях экспериментальными данными по теме диссертации, при обработке результатов применены статистические методы анализа.

Личный вклад соискателя состоит в личном участии автора в экспериментальной работе на всех этапах исследований, в анализе и изучении научной литературы, в планировании и проведении экспериментов, в

получении и обработке экспериментальных данных, в оформлении и подготовке научных публикаций по результатам исследований.

На заседании 01.03.2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Макрушину К.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 9 докторов наук по специальности защищаемой диссертации 03.02.03 «Микробиология», участвовавших в заседании, из 21 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение ученой степени – 17, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета _____ (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь
диссертационного совета _____ (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 01.03.2019 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет

