

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.088.01
(Д 002.214.01) НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ОБЩЕЙ
ГЕНЕТИКИ ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 19.05.2022 протокол № 13

О присуждении Юсуповой Юлии Рашитовне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация «Поиск, изучение и практическое применение генов 5'-нуклеотидаз промышленно-значимых видов бацилл» по специальности 1.5.7. – генетика принята к защите «18» марта 2022 г., протокол №5, диссертационным советом 24.1.088.01 (Д 002.214.01.) на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3, приказ Минобрнауки РФ №105/нк от 11.04.2014.

Соискатель Юсупова Юлия Рашитовна, 1983 года рождения, в 2007 г. окончила Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет по специальности «генетика», ей присуждена квалификация «генетик».

Диссертационная работа Юсуповой Юлии Рашитовны выполнена в Акционерном Обществе «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика» (АО «АГРИ»).

В период подготовки диссертации с 2009 по 2012 год Юсупова Ю.Р. работала в должности инженера-исследователя, а с 2012 года по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в АО «АГРИ».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано 16 января 2012 года Федеральным государственным унитарным предприятием Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции

промышленных микроорганизмов, в котором Юсупова Ю.Р. проходила обучение в аспирантуре с 2007 по 2010 год.

Научный руководитель диссертационной работы – Закатаева Наталия Павловна, кандидат биологических наук, доцент, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией №2 АО «АГРИ», г. Москва.

Официальные оппоненты:

- **Манухов Илья Владимирович** - доктор биологических наук, (специальность 1.5.7. – генетика), профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики, заместитель заведующего кафедрой биофизики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», г. Москва.

- **Березина Оксана Валентиновна** - кандидат биологических наук (специальность – 1.5.3. молекулярная биология), ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Курчатовский комплекс генетических исследований (ГосНИИгенетика)», г. Москва.

Официальные оппоненты дали положительные отзывы. Высказаны некоторые замечания и комментарии. В целом замечания носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания и комментарии представлены в стенограмме заседания.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), г. Москва, в своем положительном заключении, подписанным Долгих Дмитрием Александровичем, доктором биологических наук по специальности – 1.5.3. молекулярная биология, профессором, заведующим

лабораторией инженерии белка ИБХ РАН, указывает, что диссертационная работа по своему содержанию, уровню выполнения научных исследований, научной новизне и практической значимости полученных результатов полностью соответствует всем требованиям ВАК Минобрнауки РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертация является законченной квалификационной работой, выполненной на актуальную тему на высоком методическом уровне. Достоверность результатов, полученных автором в рамках проведенных исследований, научная и практическая значимость работы не вызывают сомнений. Выводы, сделанные автором, соответствуют поставленным целям и полученным результатам. Диссертация не вызывает серьезных замечаний. Ответ на отзыв представлен в стенограмме заседания.

Соискатель имеет 3 печатные работы в рецензируемых научных изданиях, входящих в международные и российские базы цитирования, которые рекомендованы ВАК Минобрнауки РФ для защиты диссертаций, также зарегистрирована 1 патентная заявка и опубликованы 3 тезиса докладов, представленных на международных конференциях.

Публикации в научных журналах:

1. Закатаева Н. П., Юсупова Ю. Р., Романенков Д.В., Лившиц В. А. Современные методы генетического конструирования промышленных штаммов на основе бактерий рода *Bacillus*. Биотехнология, 2013, № 5, С. 8-23.
2. Zakataeva N. P., Romanenkov D. V., Yusupova Yu. R., Skripnikova V. S., Asahara T., Gronskey S. V. Identification, Heterologous Expression, and Functional Characterization of *Bacillus subtilis* YutF, a HAD Superfamily 5'-Nucleotidase with Broad Substrate Specificity. PLoS One. 2016 Dec 1;11(12):e0167580.
3. Yusupova Yu. R., Skripnikova V. S., Kivero A. D., Zakataeva N. P. Expression and purification of the 5'-nucleotidase YitU from *Bacillus* species: its enzymatic properties and possible applications in biotechnology. Appl Microbiol Biotechnol. 2020 Apr; 104(7):2957-2972.

Патентная заявка:

Юсупова Ю. Р., Закатаева Н. П., Скрипникова В. С., Гронский С. В., Ахмадышин Р. А. Способ получения пуриновых рибонуклеозидов и рибонуклеотидов с использованием бактерии рода *Bacillus*, в которой сверхэкспрессирован ген *uieE*. Патентная заявка Тайланда ТН150859 (24.03.2016).

На автореферат диссертации отзывы прислали:

1. Баймиев Андрей Ханифович – доктор биологических наук по специальности – 1.5.3 молекулярная биология, ведущий научный сотрудник, доцент, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук. Отзыв положительный, без замечаний.
2. Беккер Ольга Борисовна – кандидат биологических наук по специальности 1.5.7. генетика, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук. Отзыв положительный, без замечаний.
3. Фахруллин Равиль Фаридович – доктор биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология, главный научный сотрудник НИЛ OpenLab Бионанотехнологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета, г. Казань. Отзыв положительный, без замечаний.
4. Дгебуадзе Полина Юрьевна - кандидат биологических наук по специальности 1.5.16 – гидробиология, старший научный сотрудник лаборатории поведения низших позвоночных Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, г. Москва. Отзыв положительный, без замечаний.

5. Рожкова Александра Михайловна – кандидат химических наук по специальности 1.4.14 – кинетика и катализ, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ферментов Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, г. Москва. Отзыв положительный. Есть замечания, а именно «нечеткость рисунка 10 и отсутствие числовых значений в выводах к диссертационной работе, что осложняет количественную оценку достигнутых результатов». Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.
6. Лавров Константин Валерьевич – кандидат биологических наук по специальности 1.5.7. генетика, доцент Института nano-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных наук и технологий (ИНБИКСТ) Московского физико-технического института (Национального исследовательского университета). Есть замечания. Отмечено, что в положениях, выносимых на защиту, формулировка положения 7 не соответствует формулировке аналогичного по выполненной работе положения 5, а именно не указано, что продукт гена *uueE* наработан в *E.coli* в виде рекомбинантного белка. Кроме того, отмечена опечатка в списке публикаций литературы: в ссылке 2 цифра «2» в списке авторов. При этом указано, что замечания не снижают актуальности, научной новизны и практической значимости работы. Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.
7. Федорченко Кристина Юрьевна – кандидат биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика, старший научный сотрудник отдела научного-методического и экспортного-аналитического обеспечения по стандартизации Федерального государственного автономного учреждения «Институт медицинских материалов» Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, г. Москва. Отзыв положительный. Есть замечания. Отмечено большое количество

англицизмов в тексте. В качестве пожелания предложено добавить в автореферат информацию о физиологических концентрациях других субстратов (помимо R5P). Кроме того, автору отзыва не совсем понятно, зачем приводится K_m для случая положительной кооперативности, поскольку данная зависимость не описывается уравнением Михаэлиса-Ментен, о чем упомянуто в тексте автореферата. Ответы на замечания представлены в стенограмме заседания.

Выбор официальных оппонентов определяется их большим опытом в области генетики, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы.

Выбор ведущей организации обосновывается высоким уровнем проводимых в ней исследований в области прикладной генетики и молекулярной биологии, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Диссертационный совет отмечает, что соискателем проведен поиск и изучение генов, кодирующих 5'-нуклеотидазы у промышленно-значимых штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus amyloliquefaciens*: продукты генов, соответствующие белки, выделены, очищены, для них показаны биохимические характеристики. Предположена роль гена 5'-нуклеотидазы нуклеотидазы YutF, показана роль гена 5'-нуклеотидазы YitU, показана начальная характеристика фосфодиэстеразы YueE.

Теоретическая значимость исследования заключается в том, что с помощью поиска *in silico* и *in vivo* у *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens* были идентифицированы и описаны новые гены: *yutF*, *yitU* и *yueE*.

Впервые было показано, что *yutF* обеспечивает основную фосфатазную активность в отношении пара-нитрофенилфосфата (pNPP) у *B. subtilis*.

Продукт гена *yutF* выделен, очищен в виде рекомбинантного белка и биохимически охарактеризован. Показано, что белок принадлежит суперсемейству НАД и является 5'-нуклеотидазой, наиболее активной в

отношении pNPP и ХМР, а также в отношении предшественников нуклеотидов, рибозо-5-фосфата и фосфорибозилпирофосфата.

Впервые показано, что ген *yutF* входит в состав оперона *yutDEF*; сверхпродукция YutF положительно влияет на экспрессию *yutDEF*, а присутствие неорганического фосфата усиливает этот эффект.

Был предложен новый подход к поиску генов 5'-нуклеотидаз и фосфогидролаз, с помощью которого в *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens* были идентифицированы гены *yitU* и *yueE*, соответственно.

Продукт гена *yitU* выделен, очищен в виде рекомбинантного белка и биохимически охарактеризован как 5'-нуклеотидаза с широкой специфичностью, наиболее активной в отношении флавинмононуклеотида.

Впервые продемонстрировано, что сверхэкспрессия *yitU* существенно повышает внеклеточное накопление рибофлавина и АICAR, и может применяться для улучшения свойств соответствующих штаммов-продуцентов.

Продукт гена *yueE* выделен, очищен в виде рекомбинантного белка и впервые охарактеризован как фосфодиэстераза, обладающая специфичностью к 2',3'-сАМР.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики заключается в том, что они позволяют расширить представление о генах и кодируемых ими ферментах превращения нуклеотидов и регуляции клеточного метаболизма; а также имеют прикладное значение в области создания продуцентов для биотехнологических производств.

Оценка достоверности результатов исследования: результаты исследования получены с применением современных молекулярно-генетических методов и программ для статистической обработки данных; все методы, использованные в исследовании, подробно описаны в работе; результаты исследования представлены в рецензируемых научных изданиях и материалах российских и международных конференций.

Личный вклад соискателя заключается в том, что все основные результаты получены лично автором, либо при его участии в планировании и проведении экспериментов. Изучение регуляции гена *yutF* *B. subtilis* проводилось совместно с сотрудником лаборатории АО «АГРИ» Романенковым Д. В. Выделение, очистка, определение биохимических характеристик и кинетических параметров рекомбинантных белков проводились совместно с сотрудником лаборатории АО «АГРИ» Скрипниковой В. С. Количественное измерение рибофлавина, пуриновых нуклеозидов и AICAR проводилось совместно с аналитической группой АО «АГРИ».

Диссертация полностью соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» № 842 от 23 сентября 2013 г.

На заседании 19 мая 2022 года диссертационный совет принял решение присудить Юсуповой Юлии Рашитовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 14 докторов наук по специальности 1.5.7. - генетика, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, проголосовали: за – 14 человек, против – нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета
Ученый секретарь

диссертационного совета



Захаров-Гезехус И.А.

Горячева И.И.

«19» мая 2022 года

Подписи Захарова-Гезехуса И.А. и Горячевой И.И. удостоверяю

Ученый секретарь ИОГен РАН

Абилев С.К.

