МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ

«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ и ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ИЦиГ СО РАН)

Пр-т. Академика Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090
Телефон: (383) 363-49-80
Факс (383) 333-12-78
E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru
http://www.bionet.nsc.ru
ИНН 5408100138/КПП 540801001
ОКПО 03533895 ОГРН 1025403657410

28.04.2022 № 15345-29-26/473

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИЦиГ СО РАН
член-корреспондент РАН
_____ Кочетов А.В.
«__» _____ 2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию соискателя МАРСОВОЙ Марии Викторовны

«Характеристика антиоксидантного потенциала лактобацилл и установление возможных молекулярно-генетических факторов его реализации», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7.– генетика.

Исследование молекулярно-генетических основ проявления антиоксидантной активности лактобацилл – комплексный междисциплинарный процесс, в котором должны быть задействованы и биохимические, биологические, и биоинформатические подходы. Антиоксидантные свойства некоторых штаммов лактобацилл хорошо известны и используются в клинической практике, однако их применение ограничено из-за недостаточной изученности конкретных механизмов и активных начал, обеспечивающих эти свойства, и требует более полного понимания механизмов осуществления указанной активности. Определение молекулярно-генетических особенностей, влияющих на проявление антиоксидантного действия лактобацилл в организме хозяина, представляется актуальным и имеет практическое значение.

Диссертационная работа Марсовой М.В. посвящена установлению возможных молекулярно-генетических факторов, определяющих проявление антиоксидантных свойств отобранных штаммов лактобацилл в разных экспериментальных условиях.

Актуальность исследования

В соответствии с современными представлениями, значительная часть хронических неинфекционных заболеваний сопряжена с развитием воспаления и окислительного стресса. В свете прогрессирующего количества случаев подобных заболеваний, значительным становится вопрос о доступных методах профилактики. Использование пробиотических свойств лактобацилл в этих целях представляется весьма перспективными направлением, поскольку уже известны штаммы лактобацилл с высокой антиоксидантной активностью. Проявляемая антиоксидантная активность может быть обеспечена посредством разнообразных механизмов, некоторые из которых обусловлены взаимодействием с организмом хозяина. Однако, более активное использование лактобацилл и их антиоксидантных свойств ограничено в силу недостаточной изученности механизмов их действия, а следовательно – безопасности и эффективности в отношении снижения окислительного стресса при различных нозологиях. Исследование генетических основ проявления антиоксидантной активности позволит более точно определять преобладающий механизм действия конкретного штамма и использовать его специфические свойства наиболее эффективно.

Научная новизна и практическая ценность исследований

В диссертационной работе Марсовой М.В., направленной на выявление штаммов лактобацилл с высокой антиоксидантной активностью и изучение определяющих ее генетических факторов, получены следующие новые приоритетные результаты:

1. Из коллекции лактобацилл, включающей 86 штаммов лактобацилл, выделенных из организмов условно здоровых жителей России, отобран и впервые описан ряд перспективных для дальнейшего изучения и практического применения штаммов с повышенными антиоксидантными свойствами.

2. В геномах исследованных штаммов определены гены, способные влиять на проявление наблюдаемой антиоксидантной активности в экспериментальных условиях. При этом показано, что количество генов, потенциально влияющих на проявление антиоксидантных свойств, выше, чем в геномах других штаммов соответствующего вида, часть из них редко встречается у лактобацилл и входит в гипотетические опероны, что также может влиять на активность проявления антиоксидантных свойств. Выявленные факторы могут служить ориентирами при проведении последующих прикладных и научных исследований.

3. Высокий антиоксидантный потенциал выявленных штаммов показан *in vivo* на моделях окислительного стресса почвенной нематоды и грызунов (мышей и крыс), что делает указанные штаммы перспективными объектами для разработки эффективных препаратов на их основе.

4. Выявленные генетические особенности исследованных штаммов *L. fermentum* LfU21 и *L. brevis* 47f могут служить базой для проведения дальнейших исследований конкретных молекулярно-генетических механизмов осуществления антиоксидантной активности.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Марсовой М.В. построена по стандартному плану, содержит следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение и Приложения. Работа иллюстрирована 30-ю рисунками и дополнена 19-ю таблицами, список литературы содержит 333 источника. Общий объем работы составляет 229 страниц.

Введение полностью отвечает названию диссертации, в нем ясно сформулирован круг проблем, актуальность работы, практическая значимость, научная новизна и сведения, необходимые для понимания рассматриваемых вопросов.

В разделе «Обзор литературы», в соответствующих разделах, описаны свойства лактобацилл, их экологические и генетические особенности. Подробно описаны возможные молекулярные механизмы осуществления антиоксидантного действия бактерий в организме хозяина. Отдельные разделы Обзора посвящены описанию механизмов развития окислительного стресса и его роли в патогенезе заболеваний.

Раздел «Материалы и методы» полно описывает широкий спектр классических и современных методов, использованных в работе, и включает разделы, содержащие подробное описание объектов исследования, этапов и методов практической работы, программы и методы статистической обработки результатов исследований. Отдельные разделы посвящены составлению референсного каталога генов и их продуктов с антиоксидантной активностью и сравнительному генетическому анализу отобранных в результате скрининга штаммов и штаммов сравнения.

В разделе «Результаты и обсуждение» представлены результаты собственных исследований, проведенных на разных биологических моделях и при помощи биоинформатических методов.

В разделе «Заключение» в краткой форме подведены итоги всех проведенных исследований, сформулированы ключевые положения и результаты квалификационной работы. В раздел «Приложения» вынесены объемные таблицы, включающие важнейшие результаты работы.

Обоснованность и достоверность научных положений выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Основной задачей работы являлось выявление генетических факторов, влияющих на проявление наблюдаемых антиоксидантных свойств в моделях *in vitro* и *in vivo*. Задачи работы четко сформулированы и обозначены. Исследования выполнены с использованием современных методов генетики, молекулярной биологии, микробиологии и биоинформатики. В осуществлении работ участвовали научные коллективы ведущих институтов, результаты были опубликованы в рецензируемых ВАК и индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science научных журналах, представлены на 8-и конференциях, из которых 5 международные.

Положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, не вызывают сомнений в их обоснованности и достоверности.

Проведенные Марсовой М.В. исследования позволили обнаружить ряд молекулярно-генетических факторов, способных влиять на проявление лактобациллами антиоксидантных свойств.

1. Показано, что антиоксидантная активность штамма *L. fermentum* LfU21 может быть обеспечена рядом генов, кодирующих белки транспорта, хелатирования и метаболизма ионов тяжелых металлов (*copA, copB* и другие) и металл-зависимых транскрипционных факторов (в том числе copR, copY/tcrY); генов белков тиоредоксинового комплекса (trxA и *trxC, tpx* (*ahpC*), *ahpF, nrdH*), в целом не характерных для *L. fermentum*; белков транспорта (cydC, cydD,) и синтеза глутатиона (*ghsF(AB)*), редко встречающихся у *L. fermentum*.

2. Установлено, что геном штамма *L. brevis* 47f содержит редко встречающиеся (не характерные) для данного вида лактобацилл гены метаболизма глутатиона: глутаредоксин-подобного белка NrdH (*nrdH*) и глутатион редуктазы, большее количество генов оксидаз/оксидоредуктаз и редко встречающиеся гены липидкиназы и пермеазы.

Практическая ценность результатов

Работа обладает высокой практической значимостью, а именно:

1. Изученные в результате работы штаммы *Limosilactobacillus fermentum* LfU21 и *Levilactobacillus brevis* 47f, благодаря выявленным генетическим особенностям и проявлению высокой антиоксидантной активности *in vivo*, могут рассматриваться как перспективные кандидаты для разработки эффективных препаратов для профилактики заболеваний, ассоциированных с развитием окислительного стресса.

2. Определенные в ходе работы генетические особенности изученных штаммов могут служить базой для дальнейших исследований, направленных на углубление фундаментальных знаний о механизмах осуществления антиоксидантной активности лактобацилл и их взаимодействия с организмом хозяина.

Данные, полученные в результате работы, Марсовой М.В., представляют научный и практический интерес, актуальны и могут быть использованы для дальнейших исследований.

Соответствие содержания диссертации указанной специальности

Содержание диссертации полностью соответствует указанной теме работы и специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

Соответствие автореферата содержанию диссертации

Предоставленный автореферат в полной мере соответствует содержанию диссертации, все основные методы, результаты и выводы представлены в полной мере.

Значимость результатов для науки и производства

Полученные в результате работы результаты представляют научный и практический интерес и обладают высокой значимостью для науки и производства. В частности – выявленные в ходе работ штаммы лактобацилл могут являться источниками биологически активных субстанций для производства биотерапетических препаратов, направленных на предотвращение последствий окислительного стресса, развивающегося в результате действия инфекционных агентов, нарушения кровообращения, при острых воспалительных процессах и нейродегенерации, а также для профилактики осложнений химиотерапии.

Диссертационная работа Марсовой Марии Викторовны является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком методическом уровне, тем не менее к содержанию имеются следующие **замечания и вопросы:**

1. При анализе геномов, отобранных в результате работы штаммов, Автор выбрал сравнение аминокислотных последовательностей белков с антиоксидантными свойствами для отбора гомологов, поскольку, по его мнению, это облегчает установление пороговых значений и позволяет повысить эффективность работы. Каким образом аминокислотные последовательности облегчают установление пороговых значений для отбора гомологов? Почему ДНК не может быть использована для отбора гомологов?
2. Судя по публикациям диссертанта, представленная работа является частью комплексного междисциплинарного исследования, которое включает использование геномного анализа, а также исследование антиоксидантных свойств *L. fermentum* LfU21 на различных моделях *in*

vivo и *in vitro*. Для представленной диссертации это имеет и позитивный и негативный эффект. Для более полного понимания значимости данной работы было бы целесообразно кратко упомянуть, предполагаются ли другие исследования с использованием мультиомиксных технологий (геномного, протеомного и транскриптомного анализа), в каком направлении будет развиваться работа, получены ли на данный момент результаты другими группами исследователей штамма *L. fermentum* LfU21, если эти работы велись.

3. Насколько понятно из текста работы, большая часть обнаруженных в результате работы генов, способных влиять на антиоксидантные свойства изученных штаммов, относится к антиоксидантной защите бактериальной клетки. Каким образом эти защитные механизмы могут влиять на изменение антиоксидантного статуса хозяина?

<u>Заключение о соответствии работы требованиям ВАК</u>

Диссертационная работа Марсовой Марии Викторовны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствующей всем требованиям, представленным в «Положении о присуждении ученых степеней» (утверждено постановлением правительства РФ от 24.09.2013 №824), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

Отзыв на диссертационную работу Марсовой М.В. «Характеристика антиоксидантного потенциала лактобацилл и установление возможных молекулярно-генетических факторов его реализации» рассмотрен, обсужден и утвержден на Ученом совете ИЦиГ СО РАН 22 апреля 2022 года, протокол №5.

Отзыв составлен кандидатом биологических наук, заведующим Отделом молекулярных биотехнологий, главным научным сотрудником ИЦиГ СО РАН Сергеем Евгеньевичем Пельтеком (03.02.07-генетика).

Заведующий Отделом молекулярных биотехнологий,
главный научный сотрудник ИЦиГ СО РАН
Кандидат биологических наук С.Е. Пельтек

Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН
кандидат биологических наук Г.В. Орлова