

**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 № 12

О присуждении Марсовой Марии Викторовне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Характеристика антиоксидантного потенциала лактобацилл и установление возможных молекулярно-генетических факторов его реализации» по специальности 1.5.7. – генетика принята к защите «18» марта 2022 г., протокол №б, 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 Марсова Мария Викторовна, 1980 года рождения, в 2003 г. окончила Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности «Химия», ей присуждена квалификация «Химик».

Для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата наук и сдачи кандидатских экзаменов, с 2017 по 2021 год обучалась в аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук. Научный руководитель диссертационной работы – Даниленко Валерий Николаевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией генетики микроорганизмов ИОГен РАН.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано 26 октября 2021 года ИОГен РАН.

Диссертация Марсовой Марии Викторовны выполнена в ИОГен РАН.

С 2014 года по настоящее время Марсова М.В. работает в ИОГен РАН в лаборатории генетики микроорганизмов в должности младшего научного сотрудника, а с ноября 2021 года в должности научного сотрудника.

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.

- **Козловский Юрий Евгеньевич** - кандидат биологических наук, (специальность 1.5.7. – генетика), 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 незначительные замечания и комментарии, относящиеся скорее к оформлению работы. Ряд замечаний 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 научное учреждение "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук" (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанным Пельтеком Сергеем Евгеньевичем, кандидатом биологических наук по специальности – 1.5.7. генетика, главным научным сотрудником,

заведующим отделом молекулярных биотехнологий ИЦиГ СО РАН, указано, 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. Научная и практическая значимость не вызывает сомнений. Диссертация в целом не вызывает серьезных замечаний. Ответ на отзыв представлен в стенограмме заседания.

Соискатель имеет 7 публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях, а также 4 патента РФ. Наиболее значительные из них индексируются в базе Web of Science.

Публикации в научных журналах:

1. Marsova M.V., Abilev S.K., Poluektova E.U., Danilenko V.N. A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of *Lactobacillus* strains from human microbiota. // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2410-2>, Q 2; SJR 0,743; IF 2.8

2. R.A. Yunes, E.U.Poluektova, E.V. Vasileva, M.V.Odorskaya, M.V.Marsova, G.I.Kovalev, V.N. Danilenko. A Multi-strain Potential Probiotic Formulation of GABA-Producing *Lactobacillus plantarum* 90sk and *Bifidobacterium adolescentis* 150 with Antidepressant Effects. // *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2019, 1-7. DOI: 10.1007/s12602-019-09601-1

3. Marsova M., Odorskaya M., Novichkova M., Polyakova V., Abilev S., Kalinina E., Shtil A., Poluektova E. and Danilenko V. The *Lactobacillus brevis* 47 f Strain Protects the Murine Intestine from Enteropathy Induced by 5-Fluorouracil. // *Microorganisms*, 2020, 8, 876; DOI: 10.3390/microorganisms8060876

4. Даниленко В.Н., Ставровская А.В., Воронков Д.Н., Гущина А.С., Марсова М.В., Ямщикова Н.Г., Ольшанский А.С., Иванов М.В., Иллариошкин С.Н. Использование фармабиотика на основе штамма *Lactobacillus fermentum* U-21 с целью модуляции нейродегенеративного

процесса при экспериментальном паркинсонизме. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2020; 14(1): 62–69. DOI: 10.25692/ACEN.2020.1.7

5. Marsova M.V., Poluektova E.U., Odorskaya M.V., Ambaryan A.V., Revishchin A.V., Pavlova G.S., Danilenko V.N. Protective effects of *Lactobacillus fermentum* U-21 against paraquat-induced oxidative stress in *Caenorhabditis elegans* and mouse models. // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2020. Jul 6;36(7):104. DOI: 10.1007/s11274-020-02879-2.

6. Averina OV, Poluektova EU, Marsova MV, Danilenko VN. Biomarkers and Utility of the Antioxidant Potential of Probiotic Lactobacilli and Bifidobacteria as Representatives of the Human Gut Microbiota. // *Biomedicines*. 2021; 9(10):1340. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101340>

7. Danilenko V.N. , Devyatkin A. V., Marsova M. V., Shibilova M. U., Ilyasov R. A., Shmyrev V.I. Common Inflammatory Mechanisms in COVID-19 and Parkinson's Diseases: The Role of Microbiome, Pharmabiotics and Postbiotics in Their Prevention.// *Journal of Inflammation Research*. 2021 Nov 30;14:6349-6381. doi: 10.2147/JIR.S333887.

Патенты:

1. RU № 2675110 от 17 декабря 2018 «Фармацевтическая композиция для терапии воспалительных заболеваний слизистых оболочек кишечника на основе штамма *Lactobacillus brevis* 47f, проявляющая местную противовоспалительную активность». Даниленко В.Н., Абилов С.К., Климина К.М, Полуэктова Е.У., Марсова М.В.

2. RU № 2617946 от 28.04.2017 «Штаммы *Lactobacillus brevis* и *Lactobacillus rhamnosus* с установленной последовательностью генома, синтезирующие глутатион и комплекс внутриклеточных антиоксидантов». Даниленко В.Н., Абилов С.К., Полуэктова Е.У., Марсова М.В.

3. RU № 2705250 от. 05.02.2018. "Штамм *Lactobacillus fermentum* U-21, продуцирующий комплекс биологически активных веществ, осуществляющих нейтрализацию супероксид-аниона, индуцируемого

химическими агентами." Даниленко В.Н., Марсова М.В., Полуэктова Е.У., Одорская М.В., Юнес Р.А.

4. RU 2757118 С2 от 11.12.2019 «Применение клеток штамма *Lactobacillus fermentum* U-21 для предотвращения патологических изменений в тканях, вызванных окислительным стрессом» Даниленко В.Н., Марсова М.В., Полуэктова Е.У.

На автореферат диссертации отзывы прислали:

1. Ушакова Нина Александровна – доктор биологических наук по специальности 1.5.6. - биотехнология и 1.5.11 - микробиология, главный научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, г. Москва. Отзыв положительный, без замечаний.

2. Нетрусов Александр Иванович – доктор биологических наук по специальности 1.5.11 - микробиология, профессор кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва. Отзыв положительный, без замечаний.

3. Голикова Мария Владимировна – кандидат биологических наук по специальности 14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология, заведующая лабораторией фармакокинетики и фармакодинамики ФГБНУ "Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе", г. Москва. Отзыв положительный, без замечаний.

4. Белов Андрей Антонович – кандидат биологических наук по специальности 1.5.11. – микробиология, младший научный сотрудник лаборатории почвенной микробиологии факультета почвоведения Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Отзыв положительный. Есть замечания и вопросы. 1. Не все аббревиатуры в тексте автореферата имеют расшифровку при первом упоминании. 2. Из текста автореферата осталось не ясным, с чем автор связывает отличия в антиоксидантной активности культуральных жидкостей различных штаммов

представителей одного вида лактобацилл. Ответы на вопросы представлены в стенограмме заседания.

Выбор официальных оппонентов определяется их большим опытом в области генетики и геномной инженерии микроорганизмов, в изучении механизмов проявления их пробиотических свойств, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы.

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

Диссертационный совет отмечает, что соискателем проведено масштабное исследование антиоксидантных свойств лактобацилл из коллекции ИОГен РАН и генетических особенностей штаммов, способных влиять на проявление этих свойств. Исследование выполнено в несколько этапов с использованием комплекса биоинформатических, биохимических, микробиологических и общебиологических методов. Все использованные в работе методы показали свою эффективность для решения поставленных задач.

При помощи стандартных и модифицированных методов анализа в коллекции лактобацилл выявлено несколько перспективных для дальнейшего изучения штаммов с выраженными антиоксидантными свойствами. Два из них (*Levilactobacillus brevis* 47f и *Limosilactobacillus fermentum* LfU21) исследованы более подробно, показана их высокая эффективность в предотвращении последствий индуцированного окислительного стресса. Для каждого из двух исследованных штаммов определены гены, влияющие на проявление антиоксидантных свойств в различных условиях. В частности – большее, чем у представителей того же вида, количество генов синтеза и метаболизма глутатиона и оксидаз/оксидоредуктаз, редко встречающийся у *L. brevis* ген пермеазы (обнаружен в 4-х геномах из 90 доступных). Геном *L. fermentum* LfU21 содержит гены белков транспорта, окисления/восстановления и хелатирования тяжелых металлов, включая

медь-транслоцирующих АТФаз Р-типа (*copA* и *copB*), медь-связывающих белков, транскрипционных регуляторов и репрессоров переноса ионов меди, редко встречающихся у лактобацилл рода *L. fermentum*.

На модельных животных показана способность лиофилизированных культур штаммов предотвращать повреждение тканей в результате воздействия токсиканта параквата (*L. fermentum* LfU21) и развитие окислительного стресса в модели индуцированного мукозита кишечника (*L. brevis* 47f). Часть исследований была проведена в рамках доклинических исследований по программе Фарма 2020. Полученные данные позволяют считать указанные штаммы перспективными кандидатами для разработки на их основе препаратов-фармабиотиков нового поколения.

Теоретическая значимость исследования заключается в том, что в процессе исследования выявлен ряд не охарактеризованных ранее молекулярно-генетических факторов, способных влиять на проявление антиоксидантной активности исследованных штаммов. Показано, что микробиота здорового человека является источником штаммов лактобацилл с антиоксидантными свойствами.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики: выявленные в ходе работы штаммы лактобацилл являются многообещающими кандидатами для разработки высокоэффективных препаратов для терапии различных заболеваний, связанных с развитием окислительного стресса. Разработанные методики применения известных биолюминесцентных систем на основе рекомбинантных штаммов к исследованию культуральных жидкостей пробиотических штаммов, значительно расширяют спектр возможного применения указанных тест-систем. Для скрининга коллекций лактобацилл с антиоксидантными свойствами разработана методика работы с модельным организмом *Caenorhabditis elegans*, позволяющая быстро и недорого проводить скрининговые исследования пробиотических штаммов в системах *in vivo*. В ходе работы составлен каталог генов и их продуктов, способных влиять на проявление лактобациллами антиоксидантной активности в различных

системах *in vitro* и *in vivo*, что также может являться критерием первичного отбора штаммов-кандидатов для разработки фармабиотических препаратов с заданными свойствами.

Оценка достоверности результатов исследования: результаты исследования получены с применением современных биологических, биохимических и 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 выполнении большей части исследований. Автор принимал личное участие на всех этапах выполнения работы. В частности: подготовка, проведение и статистическая обработка результатов скрининговых исследований в биолюминесцентных тест-системах и на модельной системе индуцированного окислительного стресса *C.elegans* выполнена соискателем полностью; планирование, оценка и интерпретация результатов практических работ с грызунами (мышами и крысами) была проведена совместно с отделом исследований мозга федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», с федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», с федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом биологии гена Российской академии наук, с федеральным государственным бюджетным учреждением науки Институтом проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук и с Федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Биоинформатический и сравнительный геномный анализ проводился совместно с доктором биологических наук Полуэктовой Е.У. и кандидатом биологических наук Ковтуном А.С. Автор также являлся основным участником при написании статей и патентов по результатам работы.

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 Марсовой Марии Викторовне 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

Захаров-Гезехус И.А.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Горячева И.И.

«19» мая 2022 года

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

Ученый секретарь ИОГен РАН

Абилев С.К.

