

Заключение диссертационного совета

Д 999.204.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 22 июня 2021 г., №3

О присуждении Мельниковой Дарье Игоревне, российское гражданство, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Бактериальные симбионты немертин (Nemertea): биологические особенности и биотехнологический потенциал» по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 20 апреля 2021 г., протокол №2 диссертационным советом Д 999.204.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-тия Владивостока, 159, №1108/нк от 16.11.2017 г.

Мельникова Дарья Игоревна, 1993 года рождения. В 2017 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», с 2017 года по настоящее время является очной аспиранткой Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН. Работает младшим научным сотрудником в лаборатории фармакологии ФГБУН «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН с 2017 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Магарламов Тимур Юсифович, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии.

Официальные оппоненты:

Андрюков Борис Георгиевич, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии;

Киселёв Константин Вадимович, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, г. Владивосток в своем положительном заключении, подписанном д.х.н., ведущим научным сотрудником Монастырной Маргаритой Михайловной, что «диссертационная работа представляется оригинальным, выполненным на высоком методическом уровне исследованием актуальных проблем современной биотехнологии. Работа представляет собой законченное научное исследование и отражает высокую квалификацию исследователя. По актуальности темы, степени новизны, значимости научных результатов отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата

биологических наук по специальности 03.01.06 –биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, все работы по теме диссертации, опубликованных в рецензируемых научных изданиях 7 статей, общим объемом 73 стр., 5 работ опубликованы в региональных, международных конференций, общим объемом 7 стр.

Наиболее значительные работы:

1. Magarlamov T.Yu., Melnikova D.I., Chernyshev A.V. Tetrodotoxinproducing bacteria: detection, distribution and migration of the toxin in aquatvie systems // *Toxins (Basel)*. – 2017. – V.9.- №5. – P.166-185.
2. Melnikova D.I., Vlasenko A.,E., Magarlamov T.Yu. Stable tetrodotoxin production by *Bacillus* sp. Strain 1839 // *Marine Drugs*. – 2019. – V.17. - №12. – P.704-710.
3. Melnikova D.I., Magarlamov T.Yu. The microbial community of tetrodotoxin-bearing and non-tetrodotoxin-bearing ribbon worms (Nemertea) from the Sea of Japan// *Marine Drugs*. – 2020. – V.18. - №3. – P.177-194.

На автореферат поступило 6 положительных отзывов из следующих организаций: 2 отзыва из Тихоокеанского филиала ФБГНУ «ВНИРО» («ТИНРО») (д.б.н., с.н.с., советник руководителя Поздняков С.Е.), (д.б.н.,в.н.с. Ковековдова Л.Т.); Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (к.б.н., в. н.с. лаб. паразитологии Атопкин Д.М.); Московского физико-технического института (к.б.н., с.н.с. лаб. Регуляции клеточного сигналинга Адонин Л.С.); Института цитологии РАН (к.б.н., с.н.с. Группы протеомики и масс-спектрометрии при Центре клеточных технологий Шабельников С.В.); Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (к.б.н., с.н.с. лаб.сравнительной цитологии Елисейкина М.Г.)

Имеются вопросы и замечания:

в отзыве д.б.н. Ковековдовой Л.Т., ТИНРО

«Перегруженность подписей к рисункам 1, 2, 3. Пояснения к графикам не обязательны».

в отзыве к.б.н. Шабельникова С.В., ИЦ РАН

«Во сколько раз удалось повысить продукцию токсина путем подбора оптимальных методов культивирования? Является ли достигнутый количественный выход токсина выгодным для промышленного производства?»

в отзыве к.б.н. Атопкина Д.М., ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН

“автор пишет, что был использован метагеномный анализ на основе данных о последовательности фрагмента гена 16S рРНК для определения таксономической принадлежности бактерий. Однако, в классическом понимании, метагеномный анализ построен на анализе полноразмерной последовательности генов. Далее, автор, описывая порядок проведения секвенирования ДНК по Сэнгеру, ссылается на работы Echt et al., 1992 и Kiselev et al., 2012; 2013, что некорректно. В данном случае автор должен сослаться на оригинальную работу Sanger et al., 1976, а так же статьи содержащие информацию о модификации данного метода, например: Чемерис, Ахунов, Вахитов, 1999; Prober et al., 1987 и др.

Не совсем понятно, что автор вкладывает в понятие «филогенетическая группа». С позиции научной этики нельзя игнорировать должности и регалии научного руководителя и коллег, выражая им благодарности в автореферате».

в отзыве к.б.н. Елисейкиной М.Г., ФГБУН ННЦМБ ДВО РАН

« следовало бы уделить большее внимание описанию систематического положения исследуемых видов немертин, указать к каким классам они относятся и привести данные о том, являются ли все исследованные виды активными хищниками? В пояснениях к Рис. 1 не хватает данных о токсичности или ее отсутствии у исследованных видов немертин. В главе «Материалы и методы» отсутствуют данные о количестве использованных в экспериментах особей».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования, имеющие научные школы, способные определить научную и практическую ценность диссертации, давшие своё согласие (пп. 22,24 Положения... от 24.09.2013 г., №842).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана экспериментальная методика получения тетродотоксина из спорулирующих морских бактерий;

предложен новый комплексный подход к анализу микрофлоры немертин, содержащих тетродотоксин, и к выявлению тетродотоксин-положительных видов/штаммов бактерий;

доказана зависимость между наличием в микрофлоре немертины тетродотоксин-продуцирующих бактерий и ее токсичностью.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана ведущая роль тетродотоксин-продуцирующих бактерий в процессе токсификации немертин;

применительно к проблематике диссертации результативно использован метод микроскопического анализа, иммунологические и микробиологические методики, биохимический анализ экстрактов животных, и метод выделения и секвенирования нуклеиновых кислот и анализа полученных нуклеотидных последовательностей;

изложены результаты исследований влияния условий культивирования на продукцию токсина;

раскрыты особенности накопления тетродотоксина в ходе жизненного цикла спорообразующей бактерии *Cytobacillus gottheilii* 1839.

изучена организация генома тетродотоксин-продуцирующего бактериального штамма *Cytobacillus gottheilii* 1839 и представлена гипотетическая последовательность ферментных реакций, участвующих в биосинтезе токсина.

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

определены перспективы использования бактериальных продуцентов в качестве источника тетродотоксина в биотехнологическом производстве;

опробованы этапы технологии получения сырья, обогащенного токсином, для последующего выделения и очистки тетродотоксина;

представлены рекомендации для модернизации методов работы с бактериальными штаммами, которые позволяют увеличить выход биологически активных веществ в общем случае, и на примере тетродотоксина были использованы для повышения эффективности синтеза токсина в бактериальной культуре.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для **экспериментальных работ** использованы современные методы исследования с привлечением приборной базы общемирового уровня. Эксперименты логично спланированы, а результаты показывают высокий уровень воспроизводимости;

теоретические выкладки, представленные соискателем, согласуются с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе мировой практики изучения бактериальной продукции морских нейротоксинов и тетродотоксина, в частности;

использованы и обобщены данные о более 150 штаммах морских тетродотоксин-продуцирующих бактерий, включая новейшую литературу по теме, что позволило соискателю подобрать оптимальные методики для анализа тетродотоксин-продуцирующей микрофлоры токсичных животных и оценки бактериальной продукции токсина отдельными штаммами. Используются статистические методы, подтверждающие высокий уровень достоверности полученных результатов.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах процесса исследования. Соискатель принимала участие в сборе материала для исследования в прибрежных водах Южного Приморья с 2015 по 2019 год, а также проводила первичную обработку и фиксацию образцов для электронной микроскопии и иммуноцитохимии, дифференциальную экстракцию токсинов для хроматографических исследований и биотестирования на культуре клеток. Соискателем были самостоятельно проведены работы, связанные с выделением и характеристикой бактериальных изолятов, выделением ДНК для проведения молекулярно-генетических работ, и экспериментальные работы по стимуляции спорообразования бактерий. Соискатель лично участвовала в планировании экспериментальных работ, обработке и интерпретации экспериментальных данных, и подготовке публикаций по выполненной работе.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, п. 9, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842.

На заседании 22 июня 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Мельниковой Д.И. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности биотехнология, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 15, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета, академик РАН

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н.

23.06.2021 г.

