

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«САРАТОВСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ФИЦ СНЦ РАН)

ул. Рабочая, 24, г. Саратов, 410028

Тел./факс (845-2) 23-45-10, 27-14-36. E-mail: sncransar@san.ru, www.sncran.ru

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра
«Саратовский научный центр Российской
академии наук» (ФИЦ СНЦ РАН)
доктор физико-математических наук
Б.Н. Хлебцов
«28» октября 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального
исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук»
на диссертационную работу **Кирияновой Татьяны Денисовны**
«Функционально-генетическая характеристика бактерий-деструкторов хлор- и
гидрокси-замещенных бифенилов и их биотехнологический потенциал»,
представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.11. – Микробиология

Диссертационная работа Татьяны Денисовны Кирияновой посвящена
характеристике и выделению микроорганизмов-деструкторов хлорированных и
гидроксизамещенных бифенилов – стойких органических загрязнителей окружающей
среды, представляющих серьезную угрозу здоровью людей и живых организмов в целом.

Актуальность исследования.

Физико-химические свойства полихлорированных биофенилов (ПХБ), содержащих
несколько атомов хлора в структуре молекулы, обуславливают их высокую способность к
биоаккумуляции и токсичность на различных уровнях организации жизни. Доказанная
опасность этих химических соединений послужила основанием для принятия
Стокгольмской конвенции «О стойких органических загрязнителях», согласно которой
производство и применение ПХБ запрещены и должны быть прекращены к 2025 г., а к 2028
г. запасы этих веществ должны быть уничтожены. Значительные по масштабам
произведенные количества ПХБ до сих пор используются в составе оборудования,
складированы или распределены в окружающей среде, что требует неотложных мер по
ликвидации этих поллютантов и очистки от них природных объектов. Утилизация
микроорганизмами различных органических соединений, включая синтетические
загрязнители, в качестве источника углерода и энергии является основным путем их
естественного превращения и разложения в природе. Поэтому, изучение и технологическое
применение микробной деградации ПХБ представляется приоритетным направлением

решения задачи очистки окружающей среды от этих токсикантов. Залогом создания успешной технологии биоремедиации от ПХБ являются выяснение закономерностей формирования микробных сообществ деструкторов, выделение, изучение и направленная селекция микроорганизмов, способных к эффективному разложению этих веществ. Учитывая вышесказанное, актуальность представленных исследований Кирьяновой Т.Д. не вызывает сомнения.

Научная новизна представленной работы заключается в детальной характеристике формирования микробных сообществ деструкторов бифенилов под влиянием загрязнителя как селективного фактора, а также всесторонняя биохимическая и генетическая оценка кatabолической активности выделенных штаммов по отношению к исследуемым поллютантам. Из состава консорциумов автором были выделены и охарактеризованы эффективные штаммы-деструкторы бифенилов, среди которых представители родов *Bosea* и *Pseudoxanthomonas* (штаммы *Bosea* sp. PNB7 и *Pseudoxanthomonas* sp. PNB2) описаны впервые. Дана подробная характеристика биодеградации (моно–тетра)-замещенных хлор- и гидроксифенилов исследованными штаммами, включая биохимический анализ образующихся метаболитов, а также выявление генетических детерминант этого признака. Несомненный интерес в работе вызывает обнаруженный факт, что гены *bphA1*, кодирующие α -субединицу ключевого фермента деградации бифенила бифенил 2,3-диоксигеназы и обнаруженные у всех выделенных штаммов, формируют отдельную ветвь на филогенетическом древе, демонстрируя сходство с генами ближайших соседей на уровне 82,32-99,76%. Важным научным результатом диссертации также является проведенный анализ полного генома одного из подробно изученных штаммов – *Rhodococcus opacus* CN628 (ВКМ Ас-3029). Автором выявлены гены и ферменты, участвующие в окислении бифенила и его производных, с использованием трех биоинформатических методов получены и проанализированы 3D-модели α -субъединицы бифенил 2,3-диоксигеназы, что открывает возможности для дальнейшего структурного и биохимического изучения этого фермента.

Достоверность результатов и выводов базируется на использовании современных методов и подходов для решения поставленных задач, корректной статистической обработке полученных данных исследования, тщательном анализе научных публикаций, а также подтверждается апробацией работы на научных конференциях и печатными работами автора.

Обоснованность научных положений, выводов и заключений не вызывает сомнений, поскольку обеспечена значительным объёмом экспериментального материала; применением современных методов молекулярно-генетических, биохимических и микробиологических исследований, их соответствием поставленной цели и задачам. Результаты полностью отражены в таблицах и рисунках, позволяющих ориентироваться в представленных статистически обработанных экспериментальных данных. Выводы и научные положения логично вытекают из результатов исследования.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертации

Автором получены и охарактеризованы новые высокоактивные штаммы деструкторы хлор- и гидроксифенилов, шесть из которых признаны наиболее перспективными и депонированы во Всероссийскую коллекцию

микроорганизмов. Проведённое исследование деструктивной активности, анализ катаболизма хлор- и гидроксизамещенных бифенилов выделенными штаммами расширяет современные научные представления о микробной деструкции этих опасных поллютантов и вносит вклад в развитие экологически ориентированных биотехнологий. Полногеномное секвенирование штамма *R. opacus* CH628, аннотирование и размещение в международной базе данных NCBI полной нуклеотидной последовательности генома этого штамма будет способствовать развитию представлений о молекулярно-генетических основах бактериальной трансформации биофенилов и открывает перспективы для биоинженерных разработок в области микробной деградации опасных токсикантов. Полученные автором 3-D модели α -субъединицы ключевого фермента биодеструкции замещенных бифенилов служат основой для последующих исследований *in silico* и возможной модификации ферментативной активности целевых штаммов.

Подтверждение опубликованных основных результатов диссертации в научной печати.

По теме диссертации автором опубликовано 15 печатных работ: 9 экспериментальных статей, из которых 7 – в журналах, индексируемых в библиографических базах Web of Science / Scopus / Белый список, 1 – в журнале из списка ВАК и 1 – в журнале РИНЦ, а также 6 публикаций в сборниках материалов конференций.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации.

Содержание автореферата диссертации Татьяны Денисовны Кирьяновой «Функционально-генетическая характеристика бактерий-деструкторов хлор- и гидроксизамещенных бифенилов и их биотехнологический потенциал» в полной мере отражает суть диссертационной работы. Цель, задачи, положения, выносимые на защиту, заключение и выводы, приведенные в автореферате, соответствуют таковым в диссертации.

Общая оценка диссертационной работы, достоинства и недостатки, замечания по работе, вопросы.

Диссертационная работа Кирьяновой Т.Д. «Функционально-генетическая характеристика бактерий-деструкторов хлор- и гидроксизамещенных бифенилов и их биотехнологический потенциал» изложена на 200 страницах, содержит 21 таблицу, 48 рисунков и 2 схемы. Работа построена по традиционному плану: состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, четырех глав полученных экспериментальных данных, заключения, выводов, списка сокращений и списка использованной литературы, включающего 317 источников, из которых 15 отечественных.

Раздел «Введение» содержит подробную информацию об актуальности предмета исследований, степени разработанности темы, о научной новизне, теоретической и практической значимости работы. Четко сформулированы цель и задачи работы, а также положения, выносимые на защиту. Показан личный вклад автора, который заключался в анализе данных литературы, планировании экспериментов и проведении исследований, обработке полученных данных, подготовке публикаций, представлении результатов экспериментов на конференциях. Отмечается инициатива автора в проведении моделирования структуры белков.

В главе «Обзор литературы» представлен подробный анализ литературы по теме диссертационной работы. Дается подробная характеристика ПХБ, приводятся источники их попадания в окружающую среду и методы удаления, обосновывается преимущество микробиологических методов деградации этих поллютантов. В этой главе автор приводит современное представление о метаболизме ПХБ бактериями, ферментах, вовлеченных в деградацию этих соединений, и генетических основах их бактериальной трансформации. В конце главы автор делает выводы об уровне современных представлений по теме и обосновывает необходимость предпринятых исследований.

В главе «Объекты и методы исследования» приводится подробная характеристика использованных в работе конгенеров ПХБ, других химических соединений, сред, условий культивирования, схемы проведения ключевых опытов, а также описываются методы моделирования белковых структур, химико-аналитических, молекулярно-генетических исследований, методики проведения расчётов и статистической обработки.

В последующих четырех главах представлены результаты собственных исследований, которые по ходу изложения сопровождаются обсуждением и сопоставлением с литературными данными. Главы логично выстроены в последовательность: получение и характеристика микробных консорциумов деструкторов, идентификация полученных изолятов, подробное исследование способности выделенных штаммов к трансформации/деградации хлор- и гидроксизамещенных бифенилов, анализ катаболизма ПХБ (идентификация метаболитов, и ферментов), характеристика генетических детерминант целевого признака – полногеномное секвенирование одного из штаммов, анализ генов, кодирующих ключевые ферменты, моделирование белковой структуры главной субъединицы ключевого фермента бактериальной деградации ПХБ.

Завершают диссертационную работу Заключение и Выводы, которые логично отражают результаты проведенных исследований.

Анализируя работу в целом, следует отметить, что диссертация Кирьяновой Т.Д. оформлена в соответствии ГОСТ 7.0.11-2011, написана хорошим научным языком и легко читается. Цель работы четко сформулирована. Задачи соответствуют цели исследования. Выводы представляются достаточно полными и убедительными.

При ознакомлении с материалами диссертации у рецензентов возникли следующие замечания и вопросы:

1. Обосновывая токсичность ПХБ и необходимость очистки окружающей среды от этого загрязнителя, автор не приводит никаких данных о концентрации этих соединений в природных и хозяйственных объектах, а также о применяемых нормах контроля за их содержанием. Это вопрос также важен для понимания, с какими концентрациями ПХБ могут сталкиваться организмы в природе и как они согласуются с концентрациями ПХБ, использованными в представленном исследовании.

2. К настоящему времени накоплено большое количество исследований по микробной деградации ПХБ, выделены и описаны многочисленные штаммы-деструкторы, о чем свидетельствует представленный автором обзор литературы. На этом фоне Татьяне Денисовне удалось выделить и охарактеризовать новые штаммы микроорганизмов-деструкторов, относящиеся к родам, для которых способность к деградации ПХБ ранее не была описана. В связи с этим хотелось бы уточнить, почему для подробных, более глубоких

исследований, полногеномного секвенирования и белкового моделирования был выбран штамм, выделенный и описанный ранее не в рамках этой работы?

3. В разделе 1.2.2, стр. 26, наряду с бактериями автор лишь вскользь упоминает о важности грибов в трансформации ПХБ, но больше не приводит никаких сведений о катаболизме этих соединений микро- и/или макромицетами, тогда как известно, что ферментные системы этих организмов зачастую более мощные, чем у бактерий. Есть ли данные об участии и/или использовании микро- и/или макромицетов в ремедиации ПХБ-загрязнений?

4. Как автор представляет себе «разработку эффективных штаммов-деструкторов» (стр. 67) с использованием методов ферментной инженерии (а может и генной инженерии), учитывая законодательные ограничения на использование модифицированных микроорганизмов, тем более высвобождаемых в окружающую среду?

5. На стр. 77 указано, что для построения белковой структуры использован ресурс AlphaFold (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>). Однако данный ресурс содержит результаты уже построенных моделей для более 200 миллионов одноцепочечных белков, аннотированных в базе данных UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Для построения 3D-структур белков и белковых комплексов on line (включая ионы, лиганды, ДНК, РНК и вещества для посттрансляционной модификации белков) методом AlphaFold 3 предназначен сервер <https://alphafoldserver.com/>, которым автор могла бы воспользоваться для решения данной задачи.

6. На стр. 146 утверждается, что «в AlphaFold используются алгоритмы мономерной модели». Однако актуальная версия AlphaFold 3 (Abramson et al., 2024. DOI: 10.1038/s41586-024-07487-w) основана на искусственном интеллекте с глубоким машинным обучением и обеспечивает построение моделей моно- и мультимерных белковых структур с включением разнообразных неорганических и биоорганических соединений (см. выше, замечание № 5).

7. В качестве пожелания на будущее автору можно рекомендовать в дополнение к использованной ею модели AlphaFold (исходная аминокислотная последовательность WP_419423179.1) и других полученных моделей для сравнения принять в рассмотрение также модель AlphaFold для изоформы «aromatic ring-hydroxylating dioxygenase subunit alpha *Rhodococcus opacus* CH628» (WP_005253321.1) со страницы <https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/A0A1B1JXW9> и модели AlphaFold 3 (с использованием on line сервера <https://alphafoldserver.com/>) для изоформ WP_005256012.1 и WP_005256004.1, добавив в комплекс с белком два иона железа Fe^{3+} , входящего в состав каталитического домена и железо-серного кластера Риска Fe_2S_2 , и обратив внимание на показатели достоверности предсказаний ipTM и pTM.

8. В тексте диссертации встречаются опечатки, неточности, в частности, на рисунке 16 название оси ординат очевидно имеет размерность мг/л, а не %.

Высказанные замечания и вопросы не затрагивают существа полученных автором результатов и сделанных в работе выводов, не умаляют общего хорошего впечатления от рецензируемой работы и не снижают высокой оценки представленных результатов.

Заключение. Таким образом, диссертация Кирьяновой Т.Д. «Функционально-генетическая характеристика бактерий-деструкторов хлор- и гидроксизамещенных бифенилов и их биотехнологический потенциал» является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям, изложенным в п.9-14 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в ред. 26.10.2023), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология.

Отзыв обсужден и одобрен на расширенном семинаре лаборатории экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Саратовский научный центр Российской академии наук» от 24.10.2025, протокол № 6.

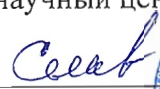
Муратова Анна Юрьевна

доцент, доктор биологических наук (специальность 03.02.03 – Микробиология)
заведующий лабораторией экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального
исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук»
410049, г. Саратов, проспект Энтузиастов 13
телефон: +7 (8452) 97-04-44
E-mail: muratova_a@ibppm.ru  /Муратова А.Ю./

Щеголев Сергей Юрьевич

профессор, доктор химических наук (02.00.04 – Физическая химия)
ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального
исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук»
410049, г. Саратов, проспект Энтузиастов 13
телефон: +7 (8452) 97-04-44
E-mail: shegolev_s@ibppm.ru  /Щеголев С.Ю./

Подписи А.Ю. Муратовой и С.Ю. Щеголева заверяю
ученый секретарь Федерального исследовательского центра
«Саратовский научный центр Российской академии наук»

к.б.н. 

/Селиванова О.Г./

28.10.2025 г.

