

решение диссертационного совета от 25.02.2016г. № 1

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.121.01 НА БАЗЕ
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимии
и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук
(ИБФМ РАН)

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК
О присуждении Луниной Юлии Николаевне, гражданке Российской
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биосинтез лимонной кислоты мутантными штаммами дрожжей
Yarrowia lipolytica из возобновляемого растительного сырья» **по специальности**
03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии) **принята к защите**
03.12.2015 протокол №5 диссертационным советом Д 002.121.01 на базе
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимии
и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина Российской академии наук,
Федеральное агентство научных организаций, 142290 Московская область, г.
Пушино, пр. Науки, д.5, (приказ Рособрнадзора № 1925-1812 от 11.09.2009 г. о
создании диссертационного совета; приказ Минобрнауки России от № 105/НК
11.04.2012г.).

Соискатель Лунина Юлия Николаевна 1977 г. рождения, в 2003 г. окончила
Нижегородский государственный университет, работает в должности младшего
научного сотрудника в лаборатории аэробного метаболизма микроорганизмов
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии
наук, Федеральное агентство научных организаций. Для подготовки диссертации
без освоения программ подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре
была прикреплена к ИБФМ РАН (приказ №27д от 22.04.2014г.).

Диссертация выполнена в лаборатории аэробного метаболизма микроорганизмов
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института

биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Федеральное агентство научных организаций.

Научный руководитель – доктор биологических наук Моргунов Игорь

Григорьевич, заведующий лабораторией аэробного метаболизма микроорганизмов ИБФМ РАН.

Официальные оппоненты:

Рукавцова Елена Борисовна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,

Любимов Валерий Юрьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник группы экологии и физиологии фототрофных организмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук **дали положительные отзывы на диссертацию.**

Ведущая организация: Федеральное государственное унитарное предприятие Государственный научно-исследовательский Институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, г. Москва **в своем положительном заключении, подписанном** д.б.н., проф. Синеокиным Сергеем Павловичем, исполнительным директором национального ресурсного центра – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) **указала, что** диссертация Ю.Н. Луниной посвящена разработке процессов получения лимонной кислоты из возобновляемого растительного сырья с помощью мутантных штаммов дрожжей *Yarrowia lipolytica*. **Актуальность темы** исследования обусловлена использованием для разработки процессов получения лимонной кислоты возобновляемых источников углерода (древесных отходов, растительных масел). Работа соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

В отзыве ведущей организации сделаны следующие замечания: 1. В главе 1 достаточно полно представлены сведения о получении лимонной кислоты с применением методов классической генетики. Вместе с тем не обсуждены имеющиеся в литературе данные о создании генно-модифицированных штаммов дрожжей – продуцентов лимонной кислоты. В ряде работ немецких исследователей описано получение рекомбинантных штаммов дрожжей *Yarrowia lipolytica* с делецией или суперэкспрессией генов, кодирующих ферменты, вовлеченные в метаболизм цитрата. Полученные трансформанты отличались от природных штаммов преимущественным синтезом лимонной кислоты. Было бы целесообразно сравнить кислотообразующую способность полученных диссертантом продуцентов с имеющимися рекомбинантными штаммами.

2. В главе 2 описание методов культивирования дрожжей приводится в пункте 2.2.1 (Состав и подготовка основной среды) и дублируется в пункте 2.2.3. Нет описания метода определения жирных кислот.

3. В работе имеются некоторые опечатки в нумерации таблицы на с. 108, названия марки прибора на с. 49.

Соискатель имеет 16 опубликованных работ, из них 15 по теме диссертации, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК. Вклад соискателя в проведение исследований, результаты которых опубликованы в работах, является основным.

Наиболее значимые публикации по теме диссертации:

1. Финогенова Т.В., Пунтус И.Ф., Камзолова С.В., Лунина Ю.Н., Монастырская С.Е., Моргунов И.Г., Боронин А.М. Получение мутантных штаммов *Yarrowia lipolytica* – продуцентов лимонной кислоты из глюкозы // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. Т. 44. № 2. С. 197-202.
2. Kamzolova S.V., Lunina J.N., Morgunov I.G. Biochemistry of citric acid production from rapeseed oil by *Yarrowia lipolytica* yeast // Journal of the American Oil Chemists' Society. 2011. V. 88. N 12. P. 1965–1976.

3. Kamzolova S.V., Vinokurova N.G., Lunina J.N., Zelenkova N.F., Morgunov I.G. Production of technical-grade sodium citrate from glycerol-containing biodiesel waste by *Yarrowia lipolytica* // Bioresource Technology. 2015. V. 193. P. 250-255.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от:

Гариповой Маргариты Ивановны, д.б.н., профессора кафедры биохимии и биотехнологии, Башкирский государственный университет;

Щербаковой Виктории Артуровны, к.б.н., заведующей лабораторией анаэробного метаболизма микроорганизмов, ИБФМ РАН;

Чернова Александра Сергеевича, к.б.н., научного сотрудника лаборатории роста клеток и тканей, ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН;

Ковалицкой Юлии Андреевны, к.б.н., научного сотрудника группы лесной биотехнологии, филиал ФГБУН Института биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;

Фатыховой Алины Ринатовны, к.б.н., специалиста отдела по науке и инновациям, Государственное автономное учреждение здравоохранения «Межрегиональный клинико-диагностический центр».

В отзывах отмечена актуальность получения высокопродуктивных штаммов дрожжей *Y. lipolytica* и разработки микробиологического способа получения лимонной кислоты из возобновляемого сырья с использованием этих продуцентов. Авторы всех отзывов считают диссертацию соответствующей всем требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а соискателя заслуживающим присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии). Замечаний в отзывах на автореферат нет.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в биотехнологии микроорганизмов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана научная идея об использовании гидролизатов древесины для разработки процессов сверхсинтеза лимонной кислоты;

предложен способ получения лимонной кислоты из возобновляемого растительного сырья с использованием высокоактивного мутантного штамма дрожжей *Yarrowia lipolytica*, характеризующегося способностью к сверхсинтезу лимонной кислоты;

доказано, что мутантные штаммы дрожжей способны синтезировать лимонную кислоту из растительных отходов в количествах, достаточных для промышленной реализации;

введены новые представления о разработке процессов биосинтеза лимонной кислоты из глюкозо-содержащих ферментолизатов древесных отходов, рапсового масла с использованием мутантных штаммов дрожжей.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

разработаны научные основы биотехнологических процессов получения лимонной кислоты с помощью мутантных штаммов дрожжей *Yarrowia lipolytica* из растительных отходов;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных микробиологических и биотехнологических и аналитических методов;

изложены данные о получении лимонной кислоты из возобновляемого растительного сырья (ферментолизатов деревоперерабатывающего производства, рапсового масла) с помощью мутантных штаммов дрожжей *Y. lipolytica*;

раскрыты особенности процесса культивирования мутантных штаммов дрожжей *Yarrowia lipolytica* для получения лимонной кислоты из возобновляемого растительного сырья;

изучены физиолого-биохимические особенности мутантов-продуцентов, а также особенности различных режимов культивирования этих штаммов (периодический с

подпиткой, отъемно-доливной, с применением мембранного модуля) для получения максимального выхода лимонной кислоты.

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

разработан процесс получения лимонной кислоты с использованием высокоэффективных мутантных штаммов *Yarrowia lipolytica*, который может быть рекомендован для реализации в промышленном масштабе;

определены условия культивирования продуцента, обеспечивающие максимальный выход конечного продукта, а также перспективы дальнейших исследований для повышения выхода лимонной кислоты;

представлена возможность получения лимонной кислоты и биомассы, обогащенной протеином и незаменимыми аминокислотами, из глюкозо-содержащих отходов лесопромышленного комплекса.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

что результаты получены на сертифицированном оборудовании; показана воспроизводимость результатов исследования; полученный штамм дрожжей *Yarrowia lipolytica* депонирован во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов ВКМ с присвоением регистрационного номера ВКМ Y-2997D;

использованы современные микробиологические и биотехнологические методы, а также компьютерные методы обработки данных.

Личный вклад соискателя состоит

в получении экспериментальных данных, их обработке, интерпретации полученных результатов и подготовке основных публикаций по выполненной работе.

На заседании 25.02.2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Луниной Ю.Н. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 6 докторов наук по специальности защищаемой диссертации 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение

ученой степени – 16, против присуждения ученой степени - нет, недействительных бюллетеней - 1.

Председатель
Диссертационного совета Д 002.121.01
чл.-корр. РАН, д.б.н., проф.



Л.В. Калакуцкий

Ученый секретарь
Диссертационного совета Д 002.121.01,
д.б.н.

Т.В. Кулаковская

« 25 » февраля 2016г.