

УТВЕРЖДАЮ
ИО зам. директора по науке
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института фундаментальных проблем
биологии Российской академии наук

(ФГБУН ИФПБ РАН),
д.б.н., Л.Г. Васильева

«20» сентября 2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук
(ФГБУН ИФПБ РАН)

Диссертация Петушковой (Лавриненко) Екатерины Павловны «Ассимиляция ацетата пурпурной несерной бактерией *Rhodobacter capsulatus* В10» выполнена в лаборатории биотехнологии и физиологии фототрофных организмов (БФФО) ФГБУН ИФПБ РАН. Тема диссертационной работы была утверждена на Ученом совете ИФПБ РАН (протокол № 2 от 14.02.2008).

В 2007 г. Петушкова (Лавриненко) Е.П. окончила биологический факультет кафедры биохимии и физиологии человека и животных Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный университет» (ФГБОУ ВО «КубГУ») г. Краснодара (специальность – Биохимия, дополнительное образование – Учитель биологии).

В 2006-2007 годах Екатерина Павловна проходила обучение по индивидуальному плану на базе Филиала МГУ им. М.В. Ломоносова в г. Пущине и преддипломную практику в лаборатории БФФО ФГБУН ИФПБ РАН. В этот период она занимала должность лаборанта-исследователя.

С 2007 по 2010 гг. Петушкова (Лавриненко) Е.П. проходила обучение в аспирантуре ИФПБ РАН и успешно сдала следующие кандидатские экзамены: «История и философия науки», «Иностранный язык (английский)», «Микробиология». В период работы над диссертацией она занимала должность инженера лаборатории БФФО ИФПБ РАН. С 2010 по 2013 год соискатель занимал должность младшего научного сотрудника в этой же лаборатории, с 2013 года по настоящее время является научным сотрудником лаборатории БФФО ИФПБ РАН.

Научный руководитель – доктор биологических наук Цыганков Анатолий Анатольевич, ВРИО директора ФГБУН ИФПБ РАН, заведующий лабораторией БФФО ФГБУН ИФПБ РАН.

По результатам рассмотрения диссертации «Ассимиляция ацетата пурпурной несерной бактерией *Rhodobacter capsulatus* В10» принято следующее заключение:

Актуальность темы.

Основным путем ассимиляции ацетата у фотосинтезирующих пурпурных бактерий

является цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). При росте с использованием ацетата в качестве единственного источника углерода многие интермедиаты этого цикла расходуются на биосинтетические нужды. Поддержание пула щавелевоуксусной кислоты (ЩУК) у многих бактерий осуществляется с помощью глиоксилатного шунта, в котором происходит образование малата из двух молекул ацетил-КоА и сукцината, предшественников ЩУК в ЦТК. Ключевыми ферментами глиоксилатного шунта являются изоцитратлиаза (ИЦЛ) и малатсинтаза. Литературные данные относительно функционирования этого пути в *Rba. capsulatus* противоречивы, поэтому выяснение, какие именно реакции задействованы в восполнении пула ЩУК в ЦТК у этой бактерии, а также в каких условиях активен глиоксилатный цикл, является актуальной научной задачей.

Личное участие соискателя.

Эксперименты по теме диссертации, а также их обработка были проведены автором самостоятельно. Автор участвовал в постановке задач и формулировке выводов, а также в подготовке публикаций по выполненной работе.

Достоверность результатов исследований, проведенных соискателем.

При выполнении работы были использованы биохимические, биофизические и физиологические методы. Эксперименты проведены в достаточной биологической повторности. Выводы и теоретические положения обоснованы экспериментальными данными и отражены в печатных работах.

Научная новизна.

Определены основные причины существовавших разногласий в отношении использования пурпурной несерной бактерией *Rba. capsulatus* глиоксилатного цикла при фотогетеротрофном росте на среде с ацетатом в качестве единственного источника углерода. Они заключаются, во-первых, в высокой лабильности ключевого фермента глиоксилатного цикла, ИЦЛ, которая отличается высокой чувствительностью к протеазам и подвержена деструктивным процессам в окислительных условиях. Во-вторых, в зависимости ИЦЛ активности от физиологического состояния культуры в процессе роста на ацетате. В-третьих, возможностью роста данной бактерии без глиоксилатного цикла за счет использования других анаплеротических последовательностей, которые позволяют пополнять пул ЩУК в ЦТК при росте на С2-углеродных субстратах.

Впервые собрана и систематизирована информация о ферментах-аналогах для известных и новых путей восполнения пула ЩУК в ЦТК, отличающихся, в том числе, специфичностью к различным энантиомерам субстратов. Создана универсальная метаболическая схема путей восполнения пула ЩУК в ЦТК у прокариот. В свете новых данных предложена новая классификация этих путей по образуемому в них метаболиту, через который происходит восполнение пула ЩУК и предшественников ЩУК в ЦТК.

Определен генетический потенциал для функционирования путей восполнения пула ЩУК в ЦТК у *Rba. capsulatus*. Показано, какие из обнаруженных путей активны на транскрипционном уровне в исследуемой бактерии при фототрофном росте на ацетате в анаэробных условиях.

Практическая значимость работы.

Пурпурные несерные бактерии способны образовывать водород как побочный продукт роста культуры на органических отходах. При этом наиболее перспективным источником органических соединений для данного процесса являются продукты

брожения углеводов, которые в большом количестве содержат ацетат и бутират. Знание особенностей метаболизма ацетата *Rba. capsulatus* позволяет предсказать ряд модификаций генома данной бактерии, которые могут привести к повышению эффективности преобразования ацетата в водород (один из видов экологически чистого энергоносителя) или увеличения производительности данной бактерией полигидроксиалканатов (биodeградебельных пластиков).

Ценность научных работ соискателя.

Созданная метаболическая схема путей восполнения пула интермедиатов ЦТК при росте с использованием ацетата является универсальной и, в совокупности с данными о ферментах-аналогах (представлены в тексте и таблицах), может служить первичной информацией для изучения метаболизма ацетата у прокариот, относящихся к различным систематическим группам.

Диссертационная работа Петушковой (Лавриненко) Е.П. соответствует специальности 03.02.03 – Микробиология. Результаты исследований, представленные в работе, соответствуют основным направлениям физиологии и биохимии микроорганизмов.

Основные материалы диссертации на 80% опубликованы в работах соискателя: в двух статьях научных журналов, рекомендованных ВАК, и в 8 тезисах докладов российских и международных конференций.

Список опубликованных работ по теме диссертации:

Статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

- 1) **Петушкова Е.П., Цыганков А.А.** / Основные факторы, влияющие на изоцитратлиазную активность *Rhodobacter capsulatus* В10 в фототрофных условиях // Микробиология, 2011, том 80, №5, с. 606-611.
- 2) **Петушкова Е.П., Цыганков А.А.** / Метаболизм ацетата пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus* // БИОХИМИЯ, 2017, том 82, вып. 5, с. 786 – 807.

Тезисы докладов на конференциях.

- 1) Elena V. Patrusheva, **Ekaterina P. Lavrinenco**, Anatoly A. Tsyganov / Purple non- sulfur bacterium has isocitrate lyase activity indeed // International Meeting «Photosynthesis in the post-genomic era: structure and function of photosystems» (Pushchino, 2006);
- 2) **Лавриненко Е.П.** / Определение изоцитратлиазы в пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus* В10 // 11-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» 2007, с. 150.
- 3) **Петушкова Е.П., Цыганков А.А.** / Изоцитратлиазная активность пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus* В10 // Всероссийский симпозиум с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов» декабрь 2009, с. 148.
- 4) **Петушкова Е.П., Цыганков А.А.** / Изоцитратлиазная активность пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus* В10 // 14 Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» 2010, с. 333.
- 5) **Петушкова Е.П.** / Особенности проявления активности изоцитратлиазы в культуре *Rhodobacter capsulatus* штамм В10 // Международная конференция молодых ученых “Экспериментальная и теоретическая биофизика” 2013, с. 140.
- 6) **Петушкова Е.П.** / Влияние состава питательной среды на проявление активности

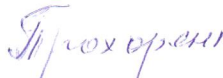
изоцитратлиазы в культуре *Rhodobacter capsulatus* штамм В10 // Школа-конференция молодых ученых на базе института фундаментальных проблем биологии РАН “Биосистема: от теории к практике” 2013, с. 49.

7) Петушкова Е.П., Цыганков А.А. / Экспрессия генов известных анаэробических путей ассимиляции ацетата в бактерии *Rhodobacter capsulatus* // 5-ый Всероссийском симпозиум с международным участием «Автотрофные организмы» 2015, с. 65.

8) Petushkova E. P. and Tsygankov A. A. Peculiarities of acetate assimilation in purple non-sulfur bacterium *Rhodobacter capsulatus* В10. International Conference “Photosynthesis Research for Sustainability” in honor of Nathan Nelson and T. Nejat Veziroglu, June 19-25 2016, Pushchino, Russia, pp. 162.

Диссертационная работа Петушковой (Лавриненко) Е.П. «Ассимиляция ацетата пурпурной несерной бактерией *Rhodobacter capsulatus* В10» была рассмотрена 08.09.2017 г. на заседании расширенного семинара № 180 лаборатории БФФО ИФПБ РАН при участии лаборатории фотосинтетического окисления воды, лаборатории молекулярной организации фотосинтетического аппарата, лаборатории фотосинтетического электронного транспорта, лаборатории молекулярной биомедицины, группы экологии и физиологии фототрофных организмов и рекомендована к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Председатель расширенного семинара,
г.н.с. лаборатории молекулярной биомедицины,
д.б.н.

 И.Р. Прохоренко

Секретарь семинара,
с.н.с. лаборатории молекулярной организации
фотосинтетического аппарата,
к.б.н.



А.А. Ашихмин

