

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.232.01 (Д 002.285.01),
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «ПУЩИНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от
23 мая 2024 г. № 84

О присуждении Никулину Никите Алексеевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Эволюционная дивергенция T4-родственных бактериофагов, связанная с неканоническими азотистыми основаниями ДНК» по специальности 1.5.3. — «Молекулярная биология» принята к защите 21 марта (протокол заседания № 79) диссертационным советом 24.1.232.01 (Д 002.285.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», 142290 Московская обл., г. Пушкино, проспект Науки, д.3, приказ Минобрнауки России от 07 ноября 2019 года РФ №1069/нк, с изменениями, внесенными приказами Минобрнауки России № 118 от 24 февраля 2021, №561/нк от 3 июня 2021 г., № 24/нк от 28 января 2021 г. и № 1162/нк от 12 октября 2022 г.

Соискатель Никулин Никита Алексеевич, 26 декабря 1994 года рождения, в 2017 году окончил бакалавриат ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет» (ВятГУ) по направлению подготовки 06.03.01 – Биология, в 2019 году с отличием окончил магистратуру ВятГУ по направлению 06.04.01 – Биология, в 2023 году соискатель окончил очную аспирантуру Федерального

государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН) по направлению 06.06.01 – «Биологические науки». В настоящий момент работает в должности младшего научного сотрудника в лаборатории молекулярной микробиологии ФИЦ ПНЦБИ РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии ФИЦ ПНЦБИ РАН. Научный руководитель – кандидат биологических наук Зимин Андрей Антонович, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН – обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН.

Официальные оппоненты:

1. Рукавцова Елена Борисовна - доктор биологических наук, старший научный сотрудник группы биотехнологии растений ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН;
2. Феоктистова Наталья Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»

дали **положительные** отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им Г. Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека» (ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора) – в своем **положительном** отзыве, подписанном чл.-корр. РАН, доктором биологических наук, профессором РАН Алешкиным Андреем Владимировичем, зам. директора по медицинской

биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, указала, что диссертационная работа Никулина Н.А. является самостоятельным, законченным научным исследованием в области изучения влияния неканонических оснований ДНК на эволюцию Т4-родственных бактериофагов и соответствует критериям (в том числе пп. 9-14), установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» (утверждено Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года с изменениями Постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 №723, от 21.04.2016 №35, от 02.08.2016 №748, от 29.05.2017 №650, от 28.08.2017 №024, от 01.10.2018 №1168, от 26.05.2020 №751, от 20.03.2021 №426, от 11.09.2021 №1539, от 26.09.2022 №1690, от 26.01.2023 №101, от 18.03.2023 №415, от 26.10.2023 № 1786), а диссертант, Никулин Никита Алексеевич, несомненно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.3. – Молекулярная биология.

Соискатель имеет 32 опубликованные научные работы, из них по теме диссертации – 12 работ общим объемом 6,27 печатных листов, из которых 6 статей опубликовано в научных журналах, входящих в перечень рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных ВАК, из них 5 статей (Q1 и Q2) индексируется в базах данных Web of Science, Scopus, 1 статья опубликована в журнале, индексируемом в базе данных РИНЦ и 5 тезисов опубликованы в сборниках материалов всероссийских и международных конференций, из которых 4 опубликованы в сборниках материалов конференций, входящих в систему цитирования РИНЦ.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Nikulin N. A.**, Zimin A. A., Influence of non-canonical DNA bases on the genomic diversity of Tevenvirinae, *Front. microbiol.*, 2021, V. 12, P. 632686. doi: 10.3389/fmicb.2021.632686;
2. Karmanova A. N., **Nikulin N. A.**, Zimin A. A., Structural organization, evolution, and distribution of viral pyrimidine dimer-DNA glycosylases, *Biophys. Rev.*, 2022, V. 14 (4), P. 923-932. doi: 10.1007/s12551-022-00972-4;

3. **Nikulin N.**, Nikulina A., Zimin A., Aminov R., Phages for treatment of *Escherichia coli* infections, *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2023, V. 200, P. 171-206;
4. **Nikulin N. A.**, Kiselev S. S., Panyukov V. V., Lu Y., Zimin A. A., Comparative analysis of Actinobacteria phage-plasmids and their transduction potential, *Math. Biol. Bioinf.*, 2023, V. 18 (2), P. 323-346.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах, и текст не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов исследований.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

официального оппонента д.б.н. Рукавцовой Е. Б. – отзыв положительный. Замечания: 1) в тексте имеются опечатки и стилистические погрешности; 2) редакционного характера 3) латинские названия организмов и эндонуклеаз рестрикции не везде написаны курсивом; 4) в списке литературы нет общеупотребимых сокращений в названиях журналов; 5) нет расшифровки целевых полос в подписи к рис. 31, на котором представлена электрофореграмма фаговых частиц; 6) касается необходимости небольших правок фотографий спот-тестов (рис. 28-30); 7) правомерность использования термина «коргены» и рекомендация включить его в «Список сокращений»; 8) касается несоответствия результатов на пробах фекалий зубров, полученных разными методами: трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) показывает отсутствие частиц Т4-родственных бактериофагов, тогда как другие методы показывают их присутствие. Также отсутствует анализ ТЭМ проб сточных вод; 9) для получения нуклеотидных геномных последовательностей не использованы бактериофаги из фекалий зубров. 10) Вопрос касается дальнейших планов по использованию выделенных бактериофагов для получения фаговых препаратов.

официального оппонента к.б.н. Феоктистовой Н. А. – отзыв положительный.

Замечания 1) опечатки и стилистические погрешности; 2) редакционного характера. Вопросы: 1) о выборе метода горизонтального гель-электрофореза фаговых частиц для нахождения отличий между частицами и возможности

использования других методов для нахождения отличий между фагами; 2) о возможности использования выделенных бактериофагов для терапии колибактериозов зубров; 3) о возможности наличия неканонических оснований у предков бактерий-хозяев T4-родственных бактериофагов.

ведущей организации – отзыв положительный. Замечания: 1) отсутствуют номера депонирования в наименовании штаммов *E. coli* и других видов бактерий, используемых в работе; 2) уточняющего характера об использовании термина «фаговый раствор»; 3) опечатки и стилистические погрешности.

Положительные отзывы на автореферат представили:

1. д.б.н., доцент Тикунова Н. В., зав. лабораторией молекулярной микробиологии ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (без замечаний);
2. к.б.н. Масулис И. С., зам. директора по научной работе Института биофизики клетки Российской академии наук - обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН. Замечания: 1) не указаны условия электрофореза на рис. 2; 2) неправильно оформлена ссылка [61] на стр. 22;
3. к.б.н. Грановский И. Э., ведущий научный сотрудник лаборатории энзимологии генетических процессов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН – обособленного подразделения ФИЦ ПНЦБИ РАН (без замечаний).
4. к.б.н. Евсеев П. В., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биоинженерии Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (без замечаний).

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что д.б.н. Рукавцова Е.Б. является экспертом в области молекулярной биологии, включая трансгенез с использованием генетических элементов вирусов, к.б.н. Феоктистова Н.А. является компетентным специалистом в области исследования биологии

бактериофагов. Они имеют публикации в соответствующих областях в ведущих научных рецензируемых журналах.

Выбор ведущей организации обоснован тем, что ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора широко известно своими достижениями по разработке научных основ и методологических подходов к решению теоретических и прикладных вопросов эпидемиологии, микробиологии, клиники, иммунологии инфекционных заболеваний человека, в частности вопросов в области исследования фаговой терапии, а также известно работами по биологии бактериофагов, что позволяет оценить научную и практическую значимость диссертационной работы Никулина Н.А.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

предложен метод отбора Т4-родственных бактериофагов с неканоническими основаниями, основанный на спот-тесте на штаммах с системами рестрикции-модификации, ПЦР и электрофорезе фаговых частиц; впервые с использованием предложенного метода продемонстрировано биоразнообразие фагов, инфицирующих *E.coli* желудочно-кишечного тракта зубров Приокско-Тerrasного биосферного заповедника и охарактеризованы бактериофаги с антирестрикционными системами из сточных вод очистительных сооружений г. Пущино;

впервые путем анализа геномов Т4-родственных бактериофагов показаны особенности расположения генов синтеза и модификации 5-гидроксиметилцитозина и показано наличие схожих особенностей расположения генов синтеза и модификации других неканонических пиримидинов, что является важным для изучения эволюции вирусов;

впервые выявлено, что в процессе эволюции Т4-родственных бактериофагов происходило накопление генов, способствующих воспроизведению фагов с неканоническими основаниями ДНК и участвующих в снижении частоты трансдукции бактериальной ДНК, что уменьшало возможности горизонтального переноса генов хозяина;

впервые определено общее расположение большинства генов синтеза 5-гидроксиметилцитозина и его модификаций у T4-родственных вирусов в регионе между двумя коровыми генами – генами ДНК-полимеразы и хеликазы и показано наличие внутри этого региона у представителей отдельных групп этих фагов разных хоминг-эндонуклеаз;

впервые показано совокупное влияние экологических ниш и неканонических оснований ДНК на геномное разнообразие T4-родственных вирусов, что важно для понимания возможных путей эволюции вирусов в целом;

предложена концепция эволюции предков T4-родственных бактериофагов, основанная на влиянии экологических ниш и неканонических оснований с ассоциированными с ними генами.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что представленная работа показывает эволюцию T4-родственных бактериофагов, основанную на влиянии экологических ниш и неканонических оснований ДНК с ассоциированными с ними генами, тем самым расширяя фундаментальные знания о роли неканонических оснований в эволюции T4-родственных бактериофагов и распространении этих вирусов в различных экологических нишах. Несомненную теоретическую значимость также имеет обнаруженная особенность расположения генов синтеза и модификации 5-гидроксиметилцитозина в геномах T4-родственных бактериофагов, что расширяет представления об организации геномов данной группы вирусов.

Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс базовых и специальных методов, включая методы молекулярной биологии, микробиологии и, биоинформатики.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что на их основе возможно создание перспективных методов отбора бактериофагов для нужд молекулярной биологии, биотехнологии, молекулярной генетики, фаговой терапии. Полученные данные по расположению и наследованию генов синтеза и

модификации неканонических оснований позволяют использовать их для таксономического определения родов T4-родственных вирусов, а также для идентификации родственных групп фагов в целях отбора нетрансдуцирующих бактериофагов, перспективных агентов для создания препаратов фаговой терапии и перспективных методов для скрининга бактериофагов. Предложенная стратегия эволюции T4-родственных бактериофагов может быть использована для объяснения широкого распространения этих вирусов в различных экологических нишах, а также может быть использована для исследования вирусов других таксономических групп.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- репрезентативность выборок данных и воспроизводимость результатов – результаты исследований получены на сертифицированном оборудовании с обоснованием используемых контролей и калибровок. Используемые в работе методы соответствуют поставленным целям и задачам;

идея базируется на анализе собственных экспериментальных данных и сравнении с данными других научных групп, имеющимися в научной литературе по теме диссертации;

установлено качественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках;

использованы современные методы анализа и статистической обработки экспериментальных данных;

Полученные данные прошли экспертизу в рецензируемых научных журналах и в докладах на российских и международных научных конференциях.

Большинство авторских результатов получено впервые.

Личный вклад соискателя определяется его непосредственным участием на всех этапах выполнения работы, включая планирование, выполнение основной части экспериментальной работы, обработку полученных данных, а также подготовку к публикации результатов и представлении их на научных конференциях.

В ходе защиты диссертации не было высказано критических замечаний.

Соискатель Никулин Н.А. согласился с замечаниями и в полной мере ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию по генам, способствующим воспроизведению фагов с неканоническими основаниями ДНК без снижения частоты трансдукции, о возможности клонирования этих генов в другие фаги с целью их практического применения, по минимальному и максимальному количеству хоминг эндонуклеаз у исследованных бактериофагов, о наличии корреляций между неканоническими основаниями и хоминг эндонуклеазами, а также по применяемым критериям, для определения наличия неканонических оснований и возможности повлиять на конечный результат, если расширить выборку за счет увеличения числа представителей Т4-родственных фагов.

На заседании 23 мая 2024 г., протокол № 84 диссертационный совет принял решение за изучение влияния на биоразнообразие Т4-родственных бактериофагов неканонических оснований ДНК, имеющее важное значение для понимания эволюции вирусов и разработки новых подходов к выбору перспективных агентов фаговой терапии, присудить Никулину Никите Алексеевичу ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **19** человек, из них **6** докторов наук по специальности 1.5.3. – «Молекулярная биология», участвовавших в заседании, из **24** человек, входящих в состав учёного совета, проголосовали: за присуждение учёной степени – «**18**», против присуждения учёной степени – «**0**», недействительных бюллетеней – «**1**».

Зам. председателя
д.б.н., проф.

Озолин О. Н.

Ученый секретарь
д.б.н.

Дегтярева О. В.

23 мая 2024 г.

