

Отзыв

официального оппонента о диссертации Лучниковой Натальи Алексеевны «Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Работа изложена на 176 страницах машинописного текста, содержит 18 таблиц и 58 рисунков. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и списка цитируемой литературы, включающего 210 наименований.

Бактерии, принадлежащие к роду *Rhodococcus*, представляют собой хороших кандидатов для применения в микробной биотехнологии из-за их метаболической универсальности, способности разлагать широкий спектр органических соединений и устойчивости к различным стрессовым условиям. Эти актинобактерии также обладают специфической биосинтетической активностью, которая способствует их жизнестойкости в загрязнённых условиях и обеспечивает им конкурентное преимущество перед другими микроорганизмами. Метаболические особенности способствуют их потенциальному использованию в биотехнологических стратегиях получения соединений, имеющих экологическое, промышленное и (био)медицинское значение. Эти возможности биосинтеза также могут быть использованы для получения продуктов с высокой добавленной стоимостью из недорогих субстратов. Штаммы родококков также были отмечены как источник новых биоактивных молекул, что подчеркивает необходимость расширения знаний о биосинтетических способностях представителей этого рода и их потенциальном использовании в рамках биоэкономики.

Пентациклические тритерпеноиды являются вторичными метаболитами растений и широко распространены в природе. Эти вещества привлекают внимание исследователей в связи с их высокой и разнообразной биологической активностью. Это антибактериальные, противовирусные свойства, жаропонижающее и ранозаживляющее действие. Значение имеет также противоопухолевая активность этих соединений, которая, в сочетании с низкой токсичностью, обуславливает их изучение с целью создания противораковых препаратов.

По-видимому, вышеизложенные обстоятельства и послужили тому, что целью диссертационной работы Натальи Алексеевны Лучниковой была оценка способности коллекционных штаммов актинобактерий к окислительной трансформации пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда на примере олеаноловой кислоты и глицирретовой кислоты для получения новых фармакологически активных соединений. Это актуальная проблема.

Основные задачи исследования кратко можно описать следующим образом. Исследовать каталитическую активность штаммов актинобактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук в отношении олеаноловой и глицирретовой кислот. Отобрать эффективные штаммы и определить оптимальные условия окислительной биотрансформации этих кислот. Идентифицировать основные метаболиты трансформации этих кислот и оценить биологическую активность этих метаболитов. Исследовать функциональную характеристику генов бактерий, кодирующих ферменты трансформации олеаноловой и глицирретовой кислот.

Скажу сразу, что задачи эти выполнены, цель достигнута и диссертация очень хороша. Здесь всё хорошо: и тщательный обзор научной литературы (пентациклические тритерпеновые кислоты в природе, биodeградация их

бактериями и одноклеточными и мицелиальными грибами), и подробное описание объектов и методов исследования, и внятное изложение результатов и вытекающих из них выводов.

Н. А. Лучникова использовала в работе 148 коллекционных штаммов актинобактерий. В результате экспериментов было показано, что лишь отдельные штаммы, относящиеся к видам *R. jostii* (1 штамм), *R. opacus* (4 штамма), *R. rhodochrous* (5 штаммов) и *R. ruber* (2 штамма), способны использовать 1,0 г/л олеаноловую кислоты или глицирретовую кислоту в качестве единственного источника углерода и энергии. Наибольшую целевую трансформирующую активность в отношении обоих тритерпеноидов проявляли штаммы *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 757 и *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 1360. Эти штаммы были отобраны для дальнейших исследований. Научная новизна состоит в том, что автором впервые установлена способность бактерий рода *Rhodococcus* к окислительной биотрансформации пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда – олеаноловой и глицирретовой кислот. Выявлены наиболее типичные адаптивные реакции родококков на присутствие тритерпеновых кислот – от изменения морфометрических показателей и рельефа бактериальных клеток до образования в результате адгезии многоклеточных агрегатов, а также синтеза и аккумуляции резервных энергетических веществ. При использовании клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 документировано образование ранее неопisanного полиоксигенированного метаболита – 5 α ,22 α -дигидроксигипсогеновой кислоты. Выявлены гены, ответственные за образование ферментов семейства CYP450, участвующих в процессе биоконверсии тритерпеноидов. Сделан ещё ряд пионерных наблюдений. Полученные данные расширяют знания о биокаталитическом потенциале родококков и возможности их использования в качестве перспективных продуцентов новых фармакологически активных соединений на основе растительных пентациклических тритерпеноидов. Н. А. Лучникова

продемонстрировала широкую эрудицию, ею проделана очень большая, трудоёмкая работа. Принципиальных замечаний у меня нет.

В работе имеются неточности.

На странице 13 упомянуто растение *Meconopsis henrici* и дан перевод - меконопсис Генри, а надо меконопсис Анри, так как это растение названо в честь принца Анри Орлеанского.

Страница 61. Подзаголовок 2.1. Рабочая коллекция. Здесь (и далее по тексту диссертации) названия видов бактерий *Glutamicibacter nicotianae* и *Rhodococcus qingshengii* написаны с ошибкой в видовых эпитетах (в автореферате название *Rhodococcus qingshengii* написано правильно).

На странице 89 (и далее по тексту) в качестве тест-культуры значится штамм *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Между тем в этой коллекции под этим номером хранится штамм *Bacillus spizizenii*.

Разумеется, замечания эти носят редакционный характер и не снижают научной значимости работы.

Работа выполнена на высоком методологическом уровне с привлечением микробиологических, молекулярно-биологических, аналитических физико-химических методов и биоинформатических способов обработки данных. Достоверность полученных данных не вызывает сомнений. Работа прошла хорошую апробацию: по теме диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах с высоким импакт-фактором, получен патент РФ; результаты также были представлены на конференциях. Автореферат написан ясно и логично, изложение результатов сопровождается их обсуждением, хорошо иллюстрирован и дает полное представление о диссертационной работе. Заключение подводит итог проделанной работы,

расставляет акценты на полученных результатах и завершается формулированием выводов. Выводы соответствуют поставленным задачам исследования.

Работа Н. А. Лучниковой является оригинальным экспериментально-теоретическим исследованием и полностью соответствует квалификационным критериям, установленным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 «О порядке присуждения учёных степеней» с изменениями постановления Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 355. Автор диссертации, Наталья Алексеевна Лучникова несомненно заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. - Микробиология.

Заведующий лабораторией микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН), доктор биологических наук (специальность – микробиология), профессор по специальности микробиология, член-корреспондент Российской академии наук (специальность – микробиология)

В. В. Михайлов

Подпись Валерия Викторовича Михайлова заверяю:

Учёный секретарь ТИБОХ ДВО РАН
кандидат химических наук.



К. Л. Борисова

Владивосток, 23 ноября 2023 г.

690022 Владивосток, Проспект 100 лет Владивостоку, д. 159,
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН.
Тел.: (423) 2311875 (канцелярия), факс (423) 2314050, E-mail:
mikhailov@piboc.dvo.ru, сайт <http://piboc.dvo.ru>