

«УТВЕРЖДАЮ»

и.о. ректора федерального государственного
автономного образовательного учреждения

высшего образования “Пермский
государственный национальный
исследовательский университет”



кандидат социологических наук, доцент,

Германов Игорь Анатольевич

« 19 » мая 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования “Пермский государственный национальный исследовательский университет” по диссертационной работе Лучниковой Натальи Алексеевны, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Диссертация “Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*” выполнена на базе кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования “Пермский государственный национальный исследовательский университет” (ПГНИУ) и лаборатории алканотрофных микроорганизмов “Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук” – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (“ИЭГМ УрО РАН”).

В период подготовки диссертации соискатель Лучникова Наталья Алексеевна обучалась в очной аспирантуре на кафедре микробиологии и иммунологии биологического факультета ПГНИУ по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки.

В 2018 г. Лучникова Н.А. с отличием окончила магистратуру биологического факультета ПГНИУ по направлению 06.04.01 Биология.

Диплом № 105931 0463120 об окончании аспирантуры ПГНИУ выдан 7 июля 2022 г.

Научный руководитель:

Ившина Ирина Борисовна, академик РАН, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ, заведующий лаборатории алканотрофных микроорганизмов “ИЭГМ УрО РАН”.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы. В ходе выполнения диссертационной работы получены новые данные о процессах бактериальной трансформации растительных пентациклических тритерпеноидов и механизмах взаимодействия бактериальных клеток с тритерпеноидами. Важным результатом исследования является получение нового соединения с фармакологическим потенциалом.

Актуальность. При нынешнем явном дефиците эффективных лекарственных средств актуален поиск новых химических соединений с выраженной биологической активностью. Для получения производных с противоопухолевой, антимикробной, противовоспалительной активностью широко используются растительные пентациклические тритерпеноиды олеананового ряда, в том числе олеаноловая и глицирретовая кислоты. В настоящее время преобразование тритерпеноидов в основном осуществляется с использованием химических методов, которые реализуются в условиях экстремальных показателей кислотности,

температуры и требуют применения дорогостоящих катализаторов, а также защитных групп реакционно-активных центров молекулы. По сравнению с традиционным органическим синтезом, для получения энантиомерно чистых соединений технологически перспективно применение микроорганизмов, что обусловлено широким кругом метаболизируемых субстратов, исключительной хемо- и стереоселективностью катализируемых реакций, отсутствием необходимости в защите реакционно-активных центров молекулы и отсутствием побочных продуктов трансформации. В литературных источниках чаще всего для преобразования тритерпеноидов используются мицелиальные грибы, применение которых технологически нецелесообразно вследствие возможного обрастания промышленного оборудования, и потенциально опасно из-за их способности к выработке микотоксинов с мутагенным и канцерогенным эффектом. Примеры бактериальной трансформации единичны и включают процессы, катализируемые представителями родов *Bacillus*, *Nocardia*, *Streptomyces*, среди которых немало штаммов с выраженными патогенными свойствами и при этом проявляющих каталитическую активность при относительно низкой концентрации тритерпеноидов (не более 0,3 г/л). В связи с этим актуален поиск новых бактериальных катализаторов направленной трансформации тритерпеновых кислот. Одной из активно разрабатываемых в биотехнологии групп микроорганизмов являются непатогенные актиномицеты экологически значимых видов, характеризующиеся наибольшим разнообразием трансформируемых сложных гидрофобных субстратов. Типично бактериальный характер роста и лабильность метаболической системы, в том числе в экстремальных условиях внешней среды, обуславливают перспективность использования актиномицетов для биотрансформации олеаноловой и глицирретовой кислот. Способность актиномицетов рода *Rhodococcus* к направленной биоконверсии пентациклических тритерпеноидов ранее была показана на примере бетулина с образованием

биологически активного бетулона. В связи с вышеизложенным актуальность диссертационной работы Лучниковой Н.А. не вызывает сомнений.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами НИР кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ и “ИЭГМ УрО РАН”, является частью исследований, проводимых в рамках Программы развития биоресурсных коллекций (Соглашение № 075.15-2021-1051) и Госзаданий Минобрнауки РФ (АААА-А19-119112290008-4, АААА-А20-120081990069-3, 122010800029-1), поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (Аспиранты, № 20-34-90104).

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. При выполнении диссертационной работы Лучникова Н.А. проявила себя как квалифицированный специалист, способный планировать и проводить научные эксперименты, а также к критической оценке, детальному анализу и технически грамотному оформлению экспериментальных результатов с использованием современных компьютерных программ. Основная часть результатов получена автором лично. Соискатель принимал участие в подготовке результатов работы к публикации и их представлении на научных конференциях. В диссертации соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов или отдельных результатов, указывает о результатах, полученных в соавторстве, в чем соблюдается пункт п.14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 01.10.2018) “О порядке присуждения ученых степеней”.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Диссертантом достаточно полно изучена и проанализирована научная литература, посвященная получению биологически активных соединений на основе растительных терпеноидов. Достоверность результатов подтверждена высоким уровнем научно-методического выполнения экспериментов, проведенного на современном высокоточном аналитическом оборудовании, которое обеспечивает высокую воспроизводимость лабораторных анализов.

Опыты проводились в трех-, восьми- и десятикратной повторности, статистический анализ и интерпретация полученных результатов осуществлялась с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и рисунках.

Новизна и практическая значимость диссертации. На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, УНУ/ЦКП 73559/480868, <http://www.iegmcsl.ru>) впервые установлена способность актиномицетов рода *Rhodococcus* к окислительной биотрансформации пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда – олеаноловой и глицирретовой кислот. Выявлены наиболее типичные индуктивные 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. Использование суспензий нерастущих клеток *R. rhodochrous* обеспечивает полную биоконверсию олеаноловой и глицирретовой кислот в высоких (1,0 г/л) концентрациях. Полученные метаболиты идентифицированы как 3-оксопроизводные. При использовании клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 документированы новые реакции С5 гидроксирования и С23 карбоксилирования молекулы олеаноловой кислоты с образованием ранее неопisanного полиоксигенированного метаболита – 3 β ,5 α ,22 α -тригидроксиолеан-12-ене-23,28-диовой (5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой) кислоты. По данным *in silico* анализа, полученные метаболиты обладают пониженной токсичностью по сравнению с исходными кислотами и перспективны в качестве потенциальных противоопухолевых, антиоксидантных и противовоспалительных агентов. Способом *in vitro* обнаружена

антибактериальная активность полученных метаболитов – 3-оксоолеаноловая кислота и 3 β ,5 α ,22 α -тригидроксиолеан-12-ене-23,28-диовой (5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой) кислоты. С использованием биоинформатического анализа результатов NGS-секвенирования штаммов-биотрансформаторов *R. rhodochrous* и последующей постановки ПЦР в реальном времени выявлены гены, ответственные за образование ферментов семейства CYP450, участвующих в процессе биоконверсии тритерпеноидов.

Ценность научных работ соискателя. Полученные сведения расширяют представление о биокаталитическом потенциале родококков и возможности их использования в качестве перспективных биопродуцентов новых фармакологически активных соединений на основе растительных пентациклических тритерпеноидов. Отобраны штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 757, ИЭГМ 1360, характеризующиеся высокой каталитической активностью в отношении олеаноловой и глицирретовой кислот. Получены метаболиты, идентифицированные как 3-оксопроизводные. Обнаружен ранее неизвестный метаболит – 3 β ,5 α ,22 α -тригидроксиолеан-12-ене-23,28-диовая (5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновая) кислота. Рентгеноструктурные данные ранее неопisanного производного размещены в Кембриджском центре кристаллографических данных (Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC, www.ccdc.cam.ac.uk) под номером CCDC 2211937. Экспериментально подтверждено участие мембранно-связанных ферментных комплексов в процессе окислительной биотрансформации олеаноловой и глицирретовой кислот. Составлен Каталог функциональных генов биоконверсии тритерпеноидов. Сведения о полных геномах *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 (JAJNCO000000000.1), ИЭГМ 1360 (JAJNCN000000000.1) внесены в международную базу данных NCBI (National Center for Biotechnology Information, NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov). Штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 и ИЭГМ 1360 по форме “патентное депонирование” переданы во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов под номерами Ас-2191 и Ас-2189 соответственно. Подана заявка № 2023111046 от

28.04.2023 на выдачу патента РФ “Способ получения 5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой кислоты с использованием клеток *Rhodococcus rhodochrous*”. Результаты исследования используются в учебных курсах “Биоразнообразие и систематика микроорганизмов” и “Введение в биотехнологию” для студентов Пермского государственного национального исследовательского университета. Информация о штаммах-биотрансформаторах тритерпеновых кислот внесена в базу данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (<http://www.iegmc.ru/strains>).

Специальность, которой соответствует диссертация. Диссертационная работа соответствует п. 5 “Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов“ паспорта специальности 1.5.11. “Микробиология”, отрасль науки – Биологические науки.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Соискатель имеет 10 печатных работ по теме диссертации, из которых 4 статьи в изданиях, входящих в международные системы научного цитирования Scopus и Web of Science (Микробиология, Catalysts, Molecules, Pharmaceuticals). Результаты исследований доложены соискателем на региональных, всероссийских и международных конференциях.

Наиболее значимые из работ, опубликованных по представленной теме:

1. Luchnikova N.A., Grishko V.V., Ivshina I.B. Biotransformation of oleanane and ursane triterpenic acids // Molecules. – 2020. – V. 25, No. 23. – 5526. DOI: 10.3390/molecules25235526 (Q2, IF 3,267).
2. Luchnikova N.A., Grishko V.V., Kostrikina N.A., Sorokin V.V., Mulyukin A.L., Ivshina I.B. Biotransformation of oleanolic acid using *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 757 // Catalysts. – 2022. – V. 12. – 1352. DOI: 10.3390/catal12111352 (Q2, IF 4,501).

3. Лучникова Н.А., Тарасова Е.В., Гришко В.В., Ившина И.Б. *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 1360 – эффективный биокатализатор C3 окислительной трансформации олеанановых тритерпеноидов // Микробиология. – 2023. – Т. 92, № 2. – С. 184–196. DOI: 10.31857/S0026365622600742.

Luchnikova N.A., Tarasova E.V., Grishko V.V., Ivshina I.B. *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 1360, an effective biocatalyst of C3 oxidative transformation of oleanane triterpenoids // Microbiology. – 2023. – V. 92, No. 2. – P. 204–214. DOI: 10.1134/S0026261722603360 (Q3, IF 1,511).

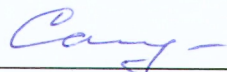
4. Tarasova E.V., Luchnikova N.A., Grishko V.V., Ivshina I.B. Actinomycetes as producers of biologically active terpenoids: Current trends and patents // Pharmaceuticals (Q1, IF 5,215). *Принято к печати.*

5. Лучникова Н.А., Гришко В.В., Ившина И.Б. Способ получения 5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой кислоты с использованием клеток *Rhodococcus rhodochrous*. Заявка № 2023111046 от 28.04.2023 на выдачу патента Российской Федерации.

Диссертация «Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*» Лучниковой Натальи Алексеевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

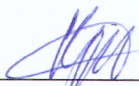
Заключение принято на заседании кафедры микробиологии и иммунологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования “Пермский государственный национальный исследовательский университет”. Присутствовало на заседании 22 чел. из 26 списочного состава. Результаты голосования: «за» –

22 чел. (единогласно), «против» – 0 чел., «воздержались» – 0 чел. Протокол заседания кафедры микробиологии и иммунологии № 5 от «15» мая 2023 г.



Председатель

Сайдакова Евгения Владимировна,
доктор биологических наук,
заместитель заведующего кафедрой
микробиологии и иммунологии
биологического факультета ПГНИУ



Секретарь

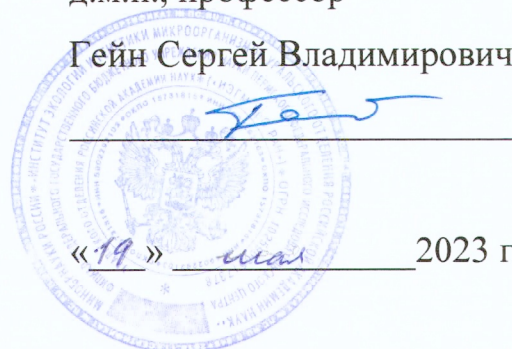
Криворучко Анастасия Владимировна,
доктор биологических наук,
профессор кафедры микробиологии
и иммунологии ПГНИУ

УТВЕРЖДАЮ:

Директор “ИЭГМ УрО РАН”,

д.м.н., профессор

Гейн Сергей Владимирович



«19» _____ 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

“Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук” – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук по диссертационной работе Лучниковой Натальи Алексеевны, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Диссертация “Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*” выполнена на базе кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования “Пермский государственный национальный исследовательский университет” (ПГНИУ) и лаборатории алканотрофных микроорганизмов “Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук” – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (“ИЭГМ УрО РАН”).

В период подготовки диссертации соискатель Лучникова Наталья Алексеевна обучалась в очной аспирантуре на кафедре микробиологии и

иммунологии биологического факультета ПГНИУ по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки.

В 2018 г. Лучникова Н.А. с *отличием* окончила магистратуру биологического факультета ПГНИУ по направлению 06.04.01 Биология.

Диплом № 105931 0463120 об окончании аспирантуры ПГНИУ выдан 7 июля 2022 г.

Научный руководитель:

Ившина Ирина Борисовна, академик РАН, доктор биологических наук, профессор микробиологии, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ, заведующая лабораторией алканотрофных микроорганизмов “ИЭГМ УрО РАН”.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы. В ходе выполнения диссертационной работы получены новые данные о процессах бактериальной трансформации растительных пентациклических тритерпеноидов и механизмах взаимодействия бактериальных клеток с тритерпеноидами. Важным результатом исследования является получение нового соединения с фармакологическим потенциалом.

Актуальность. При нынешнем явном дефиците эффективных лекарственных средств актуален поиск новых химических соединений с выраженной биологической активностью. Для получения производных с противоопухолевой, антимикробной, противовоспалительной активностью широко используются растительные пентациклические тритерпеноиды олеананового ряда, в том числе олеаноловая и глицирретовая кислоты. В настоящее время преобразование тритерпеноидов в основном осуществляется с использованием химических методов, которые реализуются в условиях экстремальных показателей кислотности, температуры и требуют применения дорогостоящих катализаторов, а также защитных групп реакционно-активных центров молекулы. По сравнению с традиционным органическим синтезом, для получения энантиомерно чистых

соединений технологически перспективно применение микроорганизмов, что обусловлено широким кругом метаболизируемых субстратов, исключительной хемо- и стереоселективностью катализируемых реакций, отсутствием необходимости в защите реакционно-активных центров молекулы и отсутствием побочных продуктов трансформации. В литературных источниках чаще всего для преобразования тритерпеноидов используются мицелиальные грибы, применение которых технологически нецелесообразно вследствие возможного обрастания промышленного оборудования, и потенциально опасно из-за их способности к выработке микотоксинов с мутагенным и канцерогенным эффектом. Примеры бактериальной трансформации единичны и включают процессы, катализируемые представителями родов *Bacillus*, *Nocardia*, *Streptomyces*, среди которых немало штаммов с выраженными патогенными свойствами, проявляющих при этом каталитическую активность при относительно низкой концентрации тритерпеноидов (не более 0,3 г/л). В связи с этим актуален поиск новых бактериальных катализаторов направленной трансформации тритерпеновых кислот. Одной из активно разрабатываемых в биотехнологии групп микроорганизмов являются непатогенные актиномицеты экологически значимых видов, характеризующиеся наибольшим разнообразием трансформируемых сложных гидрофобных субстратов. Типично бактериальный характер роста и лабильность метаболической системы, в том числе в экстремальных условиях внешней среды, обуславливают перспективность использования актиномицетов для биотрансформации олеаноловой и глицирретовой кислот. Способность актиномицетов рода *Rhodococcus* к направленной биоконверсии пентациклических тритерпеноидов ранее была показана на примере бетулина с образованием биологически активного бетуллона. В связи с вышеизложенным актуальность диссертационной работы Лучниковой Н.А. не вызывает сомнений.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами НИР кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ и “ИЭГМ УрО РАН”,

является частью исследований, проводимых в рамках Программы развития биоресурсных коллекций (Соглашение № 075.15-2021-1051) и Госзаданий Минобрнауки РФ (АААА-А19-119112290008-4, АААА-А20-120081990069-3, 122010800029-1), поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (Аспиранты, № 20-34-90104).

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. При выполнении диссертационной работы Лучникова Н.А. проявила себя как квалифицированный специалист, способный планировать и проводить научные эксперименты, а также к критической оценке, детальному анализу и технически грамотному оформлению экспериментальных результатов с использованием современных компьютерных программ. Основная часть результатов получена автором лично. Соискатель принимал участие в подготовке результатов работы к публикации и их представлении на научных конференциях. В диссертации соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов или отдельных результатов, указывает о результатах, полученных в соавторстве, в чем соблюдается пункт п.14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 01.10.2018) “О порядке присуждения ученых степеней”.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Полученные Лучниковой Н.А. результаты представительны и достоверны. Использованные в исследовании методики корректны. Комиссия по проверке первичной документации в составе председателя д.б.н., Егоровой Д.О. и членов комиссии д.м.н. Кузнецовой М.В., к.м.н. Коробова В.П., д.б.н. Смирновой Г.В., созданная по приказу директора “ИЭГМ УрО РАН” д.м.н. Гейна С.В. (№ 152/8 от 22.02.2023), подтвердила, что первичная документация соответствует материалам исследования, представлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Выводы диссертационной работы обоснованы и согласуются с полученными результатами.

Новизна и практическая значимость диссертации. На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, УНУ/ЦКП 73559/480868, <http://www.iegmcoll.ru>) впервые установлена способность актиномицетов рода *Rhodococcus* к окислительной биотрансформации пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда – олеаноловой и глицирретовой кислот. Выявлены наиболее типичные индуктивные 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. Использование суспензий нерастаущих клеток *R. rhodochrous* обеспечивает полную биоконверсию олеаноловой и глицирретовой кислот в высоких (1,0 г/л) концентрациях. Полученные метаболиты идентифицированы как 3-оксопроизводные. При использовании клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 документированы новые реакции С5 гидроксирования и С23 карбоксилирования молекулы олеаноловой кислоты с образованием ранее неопisanного полиоксигенированного метаболита – 3 β ,5 α ,22 α -тригидроксиолеан-12-ене-23,28-диовой (5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой) кислоты. По данным *in silico* анализа, полученные метаболиты обладают пониженной токсичностью по сравнению с исходными кислотами и перспективны в качестве потенциальных противоопухолевых, антиоксидантных и противовоспалительных агентов. Способом *in vitro* обнаружена антибактериальная активность полученных метаболитов – 3-оксо-олеаноловая кислота и 3 β ,5 α ,22 α -тригидроксиолеан-12-ене-23,28-диовой (5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой) кислоты. С использованием биоинформатического анализа результатов NGS-секвенирования штаммов-биотрансформаторов *R. rhodochrous* и последующей постановки ПЦР в реальном времени выявлены гены, ответственные за образование ферментов семейства CYP450, участвующих в процессе биоконверсии тритерпеноидов.

Ценность научных работ соискателя. Полученные сведения расширяют представление о биокаталитическом потенциале родококков и возможности их использования в качестве перспективных биопродукторов новых фармакологически активных соединений на основе растительных пентациклических тритерпеноидов. Отобраны штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 757, ИЭГМ 1360, характеризующиеся высокой каталитической активностью в отношении олеаноловой и глицирретовой кислот. Получены метаболиты, идентифицированные как 3-оксопроизводные. Обнаружен ранее неизвестный метаболит – 3 β ,5 α ,22 α -тригидроксиолеан-12-ене-23,28-диовая (5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновая) кислота. Рентгеноструктурные данные ранее неопisanного производного размещены в Кембриджском центре кристаллографических данных (Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC, www.ccdc.cam.ac.uk) под номером CCDC 2211937. Экспериментально подтверждено участие мембранно-связанных ферментных комплексов в процессе окислительной биотрансформации олеаноловой и глицирретовой кислот. Составлен Каталог функциональных генов биоконверсии тритерпеноидов. Сведения о полных геномах *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 (JAJNCO000000000.1), ИЭГМ 1360 (JAJNCN000000000.1) внесены в международную базу данных NCBI (National Center for Biotechnology Information, NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov). Штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 и ИЭГМ 1360 по форме “патентное депонирование” переданы во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов под номерами Ас-2191 и Ас-2189 соответственно. Подана заявка № 2023111046 от 28.04.2023 г. на выдачу патента РФ “Способ получения 5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой кислоты с использованием клеток *Rhodococcus rhodochrous*”. Результаты исследования используются в учебных курсах “Биоразнообразие и систематика микроорганизмов” и “Введение в биотехнологию” для студентов Пермского государственного национального исследовательского

университета. Информация о штаммах-биотрансформаторах тритерпеновых кислот внесена в базу данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (<http://www.iegmcoll.ru/strains>).

Специальность, которой соответствует диссертация.

Диссертационная работа соответствует п. 5 “Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов“ паспорта специальности 1.5.11. “Микробиология”, отрасль науки – Биологические науки.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Соискатель имеет 10 печатных работ по теме диссертации, из которых 4 статьи в изданиях, входящих в международные системы научного цитирования Scopus и Web of Science (Микробиология, Catalysts, Molecules, Pharmaceuticals). Результаты исследований доложены соискателем на региональных, всероссийских и международных конференциях.

Наиболее значимые из работ, опубликованных по представленной теме:

1. Luchnikova N.A., Grishko V.V., Ivshina I.B. Biotransformation of oleanane and ursane triterpenic acids // Molecules. – 2020. – V. 25, No. 23. – 5526. DOI: 10.3390/molecules25235526 (Q2, IF 3,267).

2. Luchnikova N.A., Grishko V.V., Kostrikina N.A., Sorokin V.V., Mulyukin A.L., Ivshina I.B. Biotransformation of oleanolic acid using *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 757 // Catalysts. – 2022. – V. 12. – 1352. DOI: 10.3390/catal12111352 (Q2, IF 4,501).

3. Лучникова Н.А., Тарасова Е.В., Гришко В.В., Ившина И.Б. *Rhodococcus rhodochrous* ИЭГМ 1360 – эффективный биокатализатор С3 окислительной трансформации олеанановых тритерпеноидов //

Микробиология. – 2023. – Т. 92, № 2. – С. 184–196. DOI: 10.31857/S0026365622600742.

Luchnikova N.A., Tarasova E.V., Grishko V.V., Ivshina I.B. *Rhodococcus rhodochrous* IEGM 1360, an effective biocatalyst of C3 oxidative transformation of oleanane triterpenoids // *Microbiology*. – 2023. – V. 92, No. 2. – P. 204–214. DOI: 10.1134/S0026261722603360 (Q3, IF 1,511).

4. Tarasova E.V., Luchnikova N.A., Grishko V.V., Ivshina I.B. Actinomycetes as producers of biologically active terpenoids: Current trends and patents // *Pharmaceuticals* (Q1, IF 5,215). *Принято к печати*.

5. Лучникова Н.А., Гришко В.В., Ившина И.Б. Способ получения 5 α ,22 α -дигидрокси-гипсогеновой кислоты с использованием клеток *Rhodococcus rhodochrous*. Заявка № 2023111046 от 28.04.2023 на выдачу патента Российской Федерации.

Диссертация «Трансформация пентациклических тритерпеноидов олеананового ряда с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*» Лучниковой Натальи Алексеевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение принято на заседании Проблемной комиссии «ИЭГМ УрО РАН» по специальности «Микробиология». Присутствовало на заседании 14 чел. из 16 списочного состава. Результаты голосования: «за» – 14 чел. (единогласно), «против» – 0 чел., «воздержались» – 0 чел. Протокол № 2 от 15 мая 2023 г.

Ученый секретарь, к.б.н.

«ИЭГМ УрО РАН»

Козлов Сергей Васильевич