

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора биологических наук, профессора**

**Зеновой Галины Михайловны на диссертацию**

**Синёвой Ольги Николаевны на тему: «Почвенные актиномицеты редких родов: выделение, антибиотические свойства и низкотемпературное хранение», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 – химиотерапия и антибиотики**

Эра антибиотиков началась уже почти 100 лет тому назад, с момента открытия Флемингом пенициллина, а Ваксманом стрептомицина. Однако на протяжении последних лет во всем мире наблюдается рост устойчивости патогенных микроорганизмов. Первые сообщения об устойчивости бактерий появились еще до начала их широкого применения в клинической практике. За последние 30 лет количество антибактериальных средств для системного применения, одобренных Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA – Food and Drug Administration), уменьшилось на 75%. Сложившийся кризис беспокоит специалистов по бактериологии, осознающих, что создается катастрофическое положение в области лечения инфекционных заболеваний.

Несомненно, актуальной и первоочередной задачей, нашедшей свое решение в работе Синёвой Ольги Николаевны, представляется исследование почвенных актиномицетов редких родов продуцентов новых антибиотиков, преодолевающих антибиотикорезистентность микроорганизмов.

Диссертация Синёвой Ольги Николаевны построена по традиционному плану, содержит все необходимые разделы – введение, обзор литературы, экспериментальную часть, обсуждение результатов, заключение и выводы. Работа изложена на 157 страницах, содержит 23 рисунка и 21 таблицу, список литературы включает 197 источников, в том числе 125 на иностранном языке.

В диссертации обращает на себя внимание современная литературная сводка работ, посвященная вопросам селективного выделения актиномицетов редких родов из почвы, исследованиям таксономического положения выделенных культур, методам долгосрочного хранения микроорганизмов, исследованиям фосфолипидных фракций мембран актиномицетов.

Актиномицеты, не относящиеся к роду *Streptomyces*, принято называть редкими. Автором рассмотрены методы выделения актиномицетов редких родов из почвы, выделения продуцентов биологически активных веществ из мест их естественного обитания. Автором разработан новый метод выделения актиномицетов из почвы с применением сока алоэ. Известно, что сок алоэ широко применяется в медицине при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, для повышения иммунитета, при гнойных ранах и ожогах, при туберкулезе кожи, при блефарите, кератите, конъюнктивите, бронхиальной астме, гинекологических заболеваниях и т.д. Одним из главных компонентов сока алоэ является алоэ-эмодин (гидроксиантрахинон), это вещество содержится и в таких растениях как ревень и кассия. Современные исследования показали, что алоэ-эмодин обладает антибактериальным, антигрибковым, противовирусным действием. Кроме алоэ-эмодина сок алоэ древовидного содержит сахара, аминокислоты, стероиды, производные антрацена, эфирные масла, смолистые кислоты, аллантоин, полисахариды, флавоноиды, микроэлементы, сок богат ферментами, витаминами В комплекса, витаминами С, Е, содержит бета-каротин.

В ходе работы было выделено большое количество культур редких родов актиномицетов *Micromonospora* - 44 штамма, *Nonomuraea* - 5 штаммов, *Streptosporangium* - 9 штаммов, *Nocardia* - 13 штаммов, *Actinomadura* - 8 штаммов.

Автор отмечает, что биологически активные вещества, выделяемые из актиномицетов, обладают антибактериальным, антифунгальным, противоопухолевым действием, подавляют развитие паразитарных заболеваний. Культуры редких родов трудно изолировать из почвы, в то же время эти культуры выделяют большое количество разнообразных, часто уникальных веществ. Антибиотики, синтезируемые представителями редких родов, имеют важное значение для медицины – антибиотики широкого спектра действия из группы аминогликозидов – гентамицин, сизомицин.

Автором использован широкий набор методов исследования, включая микробиологические и физиологические. Не вызывают сомнений высокий уровень и тщательность их исполнения, свидетельствующие о необходимой для этого квалификации диссертанта. Все результаты экспериментальной работы подтверждены статистически.

Исследование фазово-структурной организации фосфолипидной фракции клеточных мембран актиномицетов проведено автором с использованием коллекционных культур *Nonomuraea roseoviolaceae* subsp. *carminata* INA 4281, *Streptosporangium* sp. INA 34-06 и *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433<sup>T</sup>. Культуры выращивали до стационарной фазы роста на питательных средах в погруженных условиях, т.к. именно в стационарной фазе роста клеточные мембраны микроорганизмов наиболее устойчивы к воздействию неблагоприятных условий. По литературным данным стационарная фаза роста характеризуется постоянством и сбалансированностью липидного состава.

Изучение состава липидных фракций клеточных мембран актиномицетов показало, что преобладающими компонентами фосфолипидной фракции *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433<sup>T</sup> являются фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и фосфатидилсерин, преобладающими компонентами той же фракции у *Nonomuraea roseoviolaceae* subsp. *carminata* INA 4281 – фосфатидилэтаноламин, у *Streptosporangium* sp. INA 34-06 – фосфатидилэтаноламин и фосфатидилглицерин.

Для дифракционных измерений использовали образцы липидных фракций актиномицетов, которые помещали в кварцевые капилляры диаметром 1,5 мм и толщиной стенки 0,01 мм. Измерения дифракционных спектров проводили на установке Дикси синхронного источника Сибирь – 2 РНЦ «Курчатовский институт» при комнатной температуре. С помощью дифракционного спектрометра Дикси можно одновременно проводить измерения ламеллярной и латеральной дифракции липидных мембран. Расположение пиков на дифракционном спектре фосфолипидной фракции культуры *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433<sup>T</sup> позволяет говорить о том, что липиды находятся в двух фазовых состояниях: L(I) и L(II) ламеллярной конфигурации.

Небольшое значение периода повторяемости пика возможно при существовании плотной упаковки липидов в фазе со взаимным проникновением углеводородных цепочек. Исходя из полученных результатов следует, что в условиях дефицита воды липиды фосфолипидной фракции *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433<sup>T</sup> образуют мультислойные слои довольно плотной упаковки.

Полученные данные расширяют знания о процессах пространственной упорядоченности мембранных липидов и могут быть использованы для оптимизации условий хранения культур - продуцентов антибиотиков. Установлено, что низкотемпературная консервация позволяет сохранять культуры актиномицетов в течение длительного времени без потери антибиотической активности. Данный метод может быть рекомендован для хранения культур актиномицетов. Представлены и обоснованы рекомендации по использованию сока алоэ для увеличения количества и биоразнообразия актиномицетов редких родов при выделении их из почвы. Выявленное стимулирующее действие сока алоэ на синтез антибиотиков у штаммов-продуцентов позволяет использовать сок алоэ в качестве индуктора биосинтеза для некоторых культур актиномицетов. Создана коллекция культур актиномицетов редких родов, которая насчитывает 101 штамм. Выделенные

актиномицеты представляют интерес для дальнейшего изучения с целью получения новых биологически активных соединений, а также в области фундаментальных исследований.

Диссертация выполнена на высоком теоретическом и современном методическом уровне, хорошо оформлена, содержит большой и новый экспериментальный материал, статистически обработанный и достоверный. Выводы в диссертации достоверны, логично вытекают из экспериментальных данных и отражают основные моменты диссертации. Основные положения диссертации в достаточной мере изложены в 15 печатных работах, в том числе 4 статьях в журналах из списка Web of Science, SCOPUS и RSCI.

Опубликованные автором статьи отражают основное содержание диссертационной работы.

В процессе ознакомления с работой возникли следующие вопросы:

1. В современной литературе имеются сведения, указывающие на сопоставимое число копий генов таких родов актиномицетов как *Streptomyces* и *Micromonospora* для некоторых почвенных экосистем. Получались ли в процессе Ваших исследований похожие результаты?
2. Свойство образования вторичных метаболитов (в частности антибиотиков) проявляется на популяционном уровне. Каков механизм, объясняющий сохранение способности к образованию антибиотиков актиномицетами редких родов после длительного (3года при  $-70^{\circ}\text{C}$ ) замораживания только в концентрации от  $10^5$  клеток/мл?


Считаю, что диссертационная работа Синёвой Ольги Николаевны «Почвенные актиномицеты редких родов: выделение, антибиотические свойства и низкотемпературное хранение» полностью отвечает требованиям пункта 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года (с изменениями в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 года № 335, от 02 августа 2016 года № 748, от 29 мая 2017 года № 650, от 28 августа 2017 года № 1024, от 01 октября 2018 года № 1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Синёва Ольга Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 - химиотерапия и антибиотики.

Официальный оппонент:

профессор кафедры биологии почв факультета почвоведения  
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова  
доктор биологических наук Зенова Галина Михайловна  
федерального государственного образовательного учреждения высшего  
профессионального образования «Московский государственный университет  
имени М.В.Ломоносова»

Зенова Галина Михайловна



Контактные данные:

тел.: 7(495)9394446, e-mail zenova@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом  
защищена диссертация:

03.02.03 – микробиология

Адрес места работы:

119991, г.Москва, ГСП-1, Ленинские Горы, д. 1 стр.12,  
МГУ имени М.В.Ломоносова, факультет почвоведения

Тел.: 7(495);9392947 e-mail: main@soil.msu.ru

Подпись профессора кафедры биологии почв  
факультета почвоведения МГУ имени М.В.Ломоносова  
Г.М. Зеновой удостоверяю:

И.о. декана факультета почвоведения  
МГУ имени М.В.Ломоносова  
чл.-корр. РАН



П.В.Красильников  
«17» ноября 2020г.