

«УТВЕРЖДАЮ»
И.о. директора ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней
Федерального медико-биологического
агентства»
д.м.н., доцент А.Н. Усков
2020 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА) о научно-практической ценности диссертации Синёвой Ольги Николаевны на тему «Почвенные актиномицеты редких родов: выделение, антибиотические свойства и низкотемпературное хранение», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 - химиотерапия и антибиотики в диссертационный совет Д 001.005.01 при ФГБНУ "Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе"

Актуальность темы диссертационной работы. Устойчивость к антибиотикам является одной из наиболее серьезных проблем современной медицины. В XXI веке отмечено явное ускорения формирования и распространения новых механизмов резистентности. Все сложнее поддаются лечению такие заболевания, как туберкулез, пневмония, сальмонеллез и др. Таким образом, исследования, направленные на поиск новых соединений с антибактериальной активностью веществ имеют большое значение для медицины. Большинство современных антибиотиков получено на основе природных соединений, синтезируемых актиномицетами. Лидерами по количеству синтезируемых антибиотиков среди актиномицетов являются представители рода *Streptomyces*, однако, в настоящее время исследования направлены, в основном, на выделение из природных источников актиномицетов редких родов, которые могут быть потенциальными продуцентами новых антибиотиков.

Одной из проблем современной микробиологии является сохранение микроорганизмов в течение длительного времени без потери ценных биотехнологических свойств. Для актиномицетов одной из проблем хранения является потеря антибиотической активности после выхода из состояния анабиоза. Исследования, нацеленные на изучение механизмов повреждения клеток, помогают расширить знания о процессах, происходящих при замораживании и хранении микроорганизмов. На основании полученных данных

можно повысить уровень выживаемости микроорганизмов, выбрав оптимальные параметры хранения.

Всё вышеперечисленное свидетельствует о том, что исследование Синёвой Ольги Николаевны посвящено актуальной проблеме поиска продуцентов антибиотиков среди представителей актиномицетов редких родов и хранения выделенных культур.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Впервые для изучения факторов, влияющих на жизнеспособность и сохранения антибиотической активности культур актиномицетов под действием низких температур, был применен метод дифракции рентгеновских лучей. В результате были получены данные о фазово-структурной организации фосфолипидных фракций мембран актиномицетов различной таксономической принадлежности, что позволило объяснить различия в выживаемости актиномицетов разных родов при низких концентрациях клеток. Показано, что наиболее устойчивы к повреждающим факторам клеточные мембраны *S. hygrosopicus* RIA 1433T. В то время как клеточные мембраны *Streptosporangium* spp. INA 34-06 и *N. roseoviolacea* subsp. *carminata* INA 4281 высокочувствительны к повреждающим факторам, что проявляется в утрате жизнеспособности при низких температурах.

Научно-практическая значимость полученных результатов и рекомендации по их использованию. Результаты проведенного исследования, несомненно, имеют теоретическую значимость для науки об антибиотиках, поскольку углубляют знания о биологии продуцентов. Полученные знания также имеют практическую значимость для науки об антибиотиках, медицинской химии и фармакологии, поскольку открывают возможности стандартизации процессов хранения культур и обеспечивают сохранение практически важных свойств. Полученные автором результаты целесообразно использовать при организации хранения музейных и промышленных штаммов продуцентов антибиотиков.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключения. В основе научных положений данной диссертационной работы лежит тщательный анализ поставленной проблемы и полученных автором результатов. В работе четко сформированы и обоснованы научные положения и выводы. Выносимые на защиту положения диссертации опубликованы в рецензируемых журналах, доложены на научных конференциях. Для получения достоверных результатов в работе использовано более 500 культур актиномицетов, относящихся к родам *Streptomyces*, *Micromonospora*, и к другим редким родам (*Micromonospora*, *Nonomuraea*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinocorallia*, *Pseudonocardia*, *Amycolatopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*,

Promicromonospora, *Kribbella*). Для определения таксономического положения кроме классических фенотипических признаков использовали анализ изомеров диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) и дифференцирующих сахаров, а также анализ нуклеотидных последовательности ПЦР-фрагментов генов 16S рРНК. Антибиотическая активность выделенных культур оценена в отношении репрезентативной выборки тест-микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), *Staphylococcus aureus* ИНА 00762, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042. Полученные данные наглядно представлены в диссертационной работе в виде таблиц, рисунков, графиков и микрофотографий. Статистическая обработка полученных данных проведена адекватно и грамотно с использованием современных методов статистического анализа. Исходя из вышеуказанного, научные положения, выдвигаемые диссертантом, выводы и заключения, сформулированные в результате работы, обоснованы и достоверны.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Результаты, полученные в ходе выполнения диссертационной работы О.Н. Синевой, могут быть полезны для исследователей, занимающихся поиском продуцентов новых антибиотиков.

Считаем возможным использование результатов диссертационного исследования О.Н. Синевой в учебном процессе в высших учебных заведениях биотехнологического профиля.

Оценка содержания работы. Диссертационная работа построена по традиционной схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов, результатов исследований и их обсуждений, заключения, выводов, списка цитированной литературы и приложений. Диссертация Синёвой О.Н. изложена на 157 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу и 23 рисунка.

Обзор литературы посвящен селективным методам выделения актиномицетов редких родов из почвы, рассмотрены методы долгосрочного хранения микроорганизмов, механизмы повреждения клеток во время хранения и методы изучения бислоя мембран и их структурной организации.

В экспериментальной части диссертации ясно и четко изложены использованные в работе материалы и методы, дано описание объектов исследования. В работе подробно описываются использованные автором методы идентификации микроорганизмов, основанные на традиционных подходах (определение состава клеточных стенок

актиномицетов) и современные (молекулярно-генетических метод определения нуклеотидных последовательностей гена 16s рРНК).

Соответствие автореферата основным положениям диссертации. Автореферат достаточно полно отражает содержание диссертационной работы, соответствует основным положениям и выводам, оформлен лаконично на 24 страницах машинописного текста.

Соответствие паспорту научной специальности. Работа соответствует паспорту специальности 14.03.07 - химиотерапия и антибиотики, в частности пунктам 1 (Изыскание природных и синтетических химиотерапевтических средств с антимикробным, противовирусным и противоопухолевым действием и разработка способов их получения) и 2 (Изучение спектров, механизмов избирательного действия химиотерапевтических средств, выработка рациональных методов их применения в медицине и других областях народного хозяйства).

Соответствие паспорту специальности подтверждается тем, что в диссертационной работе проведены исследования по изысканию потенциальных продуцентов антибиотиков среди почвенных актиномицетов, относящихся к редким видам, изучена стабильность антибиотической активности выделенных культур в отношении тест-штаммов основных грамотрицательных и грамположительных бактерий. В результате изучения фазово-структурной организации фосфолипидных фракций клеточных мембран коллекционных культур актиномицетов обоснованы подходы к оптимизации режимов консервации и хранения указанных культур. Основные результаты диссертации опубликованы в научной печати.

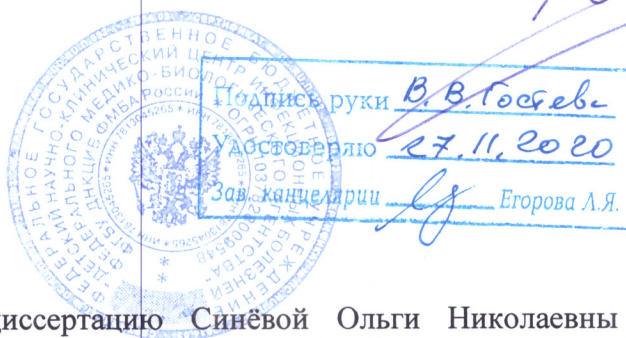
Замечания и вопросы по диссертационной работе. Существенных замечаний, оказывающих влияние на общую положительную оценку работы, нет. Хотелось бы получить от автора более подробное объяснение возможных причин различной выживаемости культур *Streptosporangium sp.* INA 34-06 и *N. roseoviolacea subsp. carminata* INA 4281 при низких температурах в зависимости от их исходной концентрации.

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Синёвой Ольги Николаевны на тему «Почвенные актиномицеты редких родов: выделение, антибиотические свойства и низкотемпературное хранение» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 - химиотерапия и антибиотики, является самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой и позволяет характеризовать диссертанта как специалиста, готового к самостоятельному решению научно-практических задач, владеющего традиционными и современными методами, используемыми при проведении микробиологических исследований. Соискатель способен объективно анализировать результаты исследований отечественных и зарубежных ученых,

представленных в современной литературе в области антибиотиков микробиологии. Научная новизна и научно-практическая значимость работы, актуальность, рассматриваемых вопросов, новизна и достоверность исследований позволяют сделать заключение, что диссертационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, а ее автор Синёва Ольга Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.07 - химиотерапия и антибиотики.

Старший научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»
кандидат биологических наук

В.В. Гостев



Отзыв на диссертацию Синёвой Ольги Николаевны на тему «Почвенные актиномицеты редких родов: выделение, антибиотические свойства и низкотемпературное хранение» обсужден и утвержден на заседании Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства», текст отзыва принят единогласно (протокол № 10 от 26 ноября 2020 г.).

Ученый секретарь доцент

В. М. Волжанин

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9
Телефон: +7(812) 234-60-04; Факс: +7(812) 234-96-91; E-mail: niidi@niidi.ru