

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 999.219.02
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ПЕРМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРМСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ
АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 01 февраля 2019 г. № 61

О присуждении **Черемных Ксении Михайловне**, гражданке России,
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация “**Биодеструкция дегидроабиетиновой кислоты
актинобактериями рода *Rhodococcus***” по специальности 03.02.03.
Микробиология принята к защите 29.11.2018 г. (протокол заседания № 18/2)
диссертационным советом Д 999.219.02, созданным на базе Федерального
государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального
исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук,
614099, г. Пермь, ул. Ленина, 13а, Федерального государственного
бюджетного учреждения высшего образования Пермского государственного
медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера Министерства
здравоохранения Российской Федерации, 614000, г. Пермь, ул.
Петропавловская, 26, приказ о создании диссертационного совета № 171/нк
от 02 октября 2018 г.

Соискатель Черемных Ксения Михайловна, 1991 года рождения, в 2013
году окончила Государственное образовательное учреждение высшего
профессионального образования “Пермский государственный национальный
исследовательский университет”, в 2016 г. окончила очную аспирантуру
Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения
Российской академии наук, работает в должности инженера 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.

Диссертация выполнена в 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.

Научные руководители – академик РАН, доктор биологических наук, профессор Ившина Ирина Борисовна, заведующая лабораторией 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; кандидат химических наук, доцент Гришко Виктория Викторовна, заведующая лабораторией биологически активных соединений ФГБУН “Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук” – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.

Официальные оппоненты: Ефременко Елена Николаевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией экобиокатализа кафедры химической энзимологии химического факультета ФГБОУ ВО “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”; Грязнова Диана Васильевна, кандидат биологических наук, начальник цеха вакцинно-сывороточных препаратов филиала ОА “НПО Микроген” в г. Перми “Пермское НПО “Биомед”, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Институт фундаментальной медицины и биологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования “Казанский (Приволжский) федеральный университет”, г. Казань, в своем положительном отзыве, подписанном

академиком Академии наук Республики Татарстан, доктором биологических наук, профессором, заведующей кафедрой микробиологии Ильинской Ольгой Николаевной, указала, что диссертация Черемных К.М. «Биодеструкция дегидроабиетиновой кислоты актинобактериями рода *Rhodococcus*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи определения возможности использования актинобактерий рода *Rhodococcus* для биоконверсии смоляных кислот, и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Соискатель имеет 21 опубликованную работу, в том числе по теме диссертации опубликована 21 работа, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 работы. Объем научных изданий составляет 58 стр., авторский вклад – 80 %. Сведения об опубликованных работах в диссертации соискателя ученой степени достоверны. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Черемных, К.М. Биодеструкция смоляных кислот – доминирующих токсичных соединений в отходах целлюлозно-бумажной промышленности / К.М. Черемных // Вестник Пермского университета. Серия Биология. 2014. № 3. С. 57–62. РИНЦ 0,095.
2. Черемных, К.М. Поиск штаммов актинобактерий, катализирующих образование интермедиатов синтеза противовирусных веществ из дегидроабиетиновой кислоты / К.М. Черемных // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9(18), № 2(1). С. 769–770. РИНЦ 0,514.
3. Черемных, К.М. Бактериальная деградация экотоксичной дегидроабиетиновой кислоты / К.М. Черемных, В.В. Гришко, И.Б. Ившина // Катализ в промышленности. 2017. Т. 17, № 2. С. 65–72. DOI: 10.18412/1816-0387-2017-2-153-160. (SCOPUS, Web of Science) РИНЦ 1,168.
4. Cheremnykh, K.M. Bioconversion of ecotoxic dehydroabietic acid using *Rhodococcus* actinobacteria / K.M. Cheremnykh, N.A. Luchnikova, V.V. Grishko, I.B. Ivshina // Journal of Hazardous Materials. 2018. V. 346. P. 103–112. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2017.12.025. (SCOPUS, Web of Science) IF 6,43.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы: от директора Института микробиологии НАН Беларуси, чл.-корр. НАН Беларуси, профессора Коломиец Э.И. и д.б.н. Алещенковой З.М. (Минск); с.н.с. Уфимского института биологии, к.б.н. Коршуновой Т.Ю. и гл.н.с. Уфимского института биологии, д.б.н. Логинова О.Н. (Уфа); зав. лаб. микробиологии Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН, профессора Михайлова В.В. (Владивосток); профессора кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии Кубанского государственного университета, к.б.н. Карасевой Э.В. (Краснодар); зав. лаб. иммунохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, профессора Щеголева С.Ю. (Саратов); д.б.н., профессора, зав. базовой кафедры биотехнологии Сибирского федерального университета Воловой Т.Г. и профессора кафедры Прудниковой С.В. (Красноярск); гл.н.с., д.б.н., руководителя лаборатории цитологии одноклеточных организмов Института цитологии РАН Скарлато С.О. (Санкт-Петербург); зав. кафедрой ботаники и микробиологии Ярославского государственного университета, к.б.н. Шеховцовой Н.В. (Ярославль).

Все полученные отзывы на автореферат положительные, в них отмечается актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования, а также высокий общий и методический уровень выполненной работы. В отзыве к.б.н. Коршуновой Т.Ю. и д.б.н. Логинова О.Н. имеется замечание, касающееся названия работы, в котором упоминается только актинобактерии рода *Rhodococcus*, что не в полной мере отражает объем проделанной работы, т.к. автором помимо микроорганизмов вышеупомянутого рода были изучены и представители родов *Dietzia* и *Gordonia*. Во всех отзывах сделано заключение, что диссертация соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а К.М. Черемных заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высоким уровнем профессиональной компетентности д.б.н. Ефременко Е.Н и к.б.н. Грязновой Д.В. и научными достижениями

Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета в области микробиологии и биотехнологии. Ефременко Е.Н. – автор более 200 научных публикаций, является ведущим специалистом в области гетерогенного биокатализа. Грязнова Д.В. является специалистом в области микробиологии, имеет публикации в российских рецензируемых журналах.

Исследовательский коллектив кафедры микробиологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета имеет публикации в ведущих отечественных и зарубежных научных журналах в области физиологии, биохимии, генетики и биотехнологии микроорганизмов, отражающие исследования метаболических путей и ферментов трансформации органических соединений, в том числе ксенобиотиков, у бактерий.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея, расширяющая представление о биокаталитическом потенциале актинобактерий рода *Rhodococcus*;

доказана эффективность использования актинобактерий рода *Rhodococcus* в процессе биоконверсии токсичных смоляных кислот на примере дегидроабиетиновой кислоты;

проведен сравнительный анализ деструктирующей и трансформирующей активности родококков разных видов; установлено, что отдельные штаммы родококков способны полностью деструктировать дегидроабиетиновую кислоту, в то время как другие трансформируют кислоту с образованием ранее не описанных метаболитов с выраженной прогнозируемой биоактивностью;

экспериментально обоснована возможность оптимизации процесса биоконверсии дегидроабиетиновой кислоты с использованием бактериальных клеток в стадии стационарной фазы роста, отмытых от источников питания, и предварительно адаптированных клеток родококков;

определенны характерные изменения морфометрических параметров и свойств клеточной поверхности родококков под воздействием дегидроабиетиновой кислоты; обосновано, что ключевые ферментные

комплексы, участвующие в биодеструкции дегидроабиетиновой кислоты, локализованы в цитоплазме бактериальных клеток, окисление дегидроабиетиновой кислоты до 5 α -гидрокси-производного катализируют ферменты, прочно связанные с цитоплазматической мембраной;

охарактеризованы пути биоконверсии дегидроабиетиновой кислоты.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

полученные данные расширяют представление о биокаталитическом потенциале актинобактерий рода *Rhodococcus*;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы традиционные микробиологические методы исследования, современные методы визуализации, в том числе атомно-силовая и конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, а также высокоточные методы качественного и количественного анализа полученных метаболитов (ГХ-МС-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, флем-хроматография);

изложены новые положения и доказательства, касающиеся биоконверсии дегидроабиетиновой кислоты актинобактериями рода *Rhodococcus*, отобраны наиболее активные штаммы-деструкторы/трансформаторы;

изучено влияние дегидроабиетиновой кислоты на морфометрические параметры и свойства клеточной поверхности родококков;

раскрыты основные закономерности процесса биоконверсии смоляных кислот бактериальными клетками в стадии стационарной фазы роста, отмытых от источников питания, и предварительно адаптированными клетками.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

способ биодеструкции дегидроабиетиновой кислоты с использованием штамма *R. rhodochrous* ИЭГМ 107, депонированного во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов под номером ВКПМ АС-2065, защищен Патентом 2656145 на изобретение РФ;

определенны перспективы практического использования новых метаболитов дегидроабиетиновой кислоты в процессе получения биологически активных соединений;

информация о наиболее активных штаммах-биодеструкторах дегидроабиетиновой кислоты включена в компьютеризированную базу данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов для использования в сети Интернет (<http://www.iegm.ru/iegmcoll/strains/index.html>);

результаты диссертационного исследования используются в лекционных курсах “Биоразнообразие и систематика микроорганизмов” и “Микроорганизмы техногенных экосистем” для студентов Пермского государственного национального исследовательского университета.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: результаты исследований получены при использовании современного высокоточного аналитического оборудования, достигнута воспроизводимость результатов в различных условиях;

использованы современные, адекватные поставленным задачам, бактериологические, биохимические, микроскопические методы исследования, а также анализа и выделения продуктов биотрансформации из реакционной среды;

все опыты проведены в трехкратной повторности, обработаны с использованием лицензионных программ и современных методов статистического анализа;

идея базируется на обобщении передового опыта, а также полученных ранее экспериментальных данных исследователей из России и других стран;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике, для интерпретации полученных результатов и выявления особенностей изучаемых процессов;

теория построена на известных, проверяемых сведениях, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в личном участии на всех этапах процесса, непосредственном участии в получении экспериментальных данных, их первичной обработке и интерпретации, подготовке основных публикаций по выполненной работе, участии в апробации полученных результатов на конференциях различного уровня;

научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора; исследования с использованием системы совмещенного атомно-силового и конфокального лазерного сканирования проводили на базе кабинета микроскопии *Rhodococcus*-центра Пермского государственного национального исследовательского университета; идентификацию продуктов биодеструкции дегидроабиетиновой кислоты проводили на базе лаборатории биологически активных соединений (зав. лабораторией – к.х.н., доцент Гришко В.В.) “Института технической химии УрО РАН” – филиала ПФИЦ УрО РАН.

На заседании **1 февраля 2019 года** диссертационный совет принял решение присудить **Черемных К.М.** ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.02.03 Микробиология (биологические науки), участвующих в заседании, из 21 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены в разовую защиту 0 человек, проголосовали: за **19**, против *нет*, недействительных бюллетеней *нет*.

Председатель диссертационного совета

Д 999.219.02, чл.-корр. РАН

Демаков В.А.

Ученый секретарь диссертационного совета

Д 999.219.02, д.б.н.

Максимова Ю.Г.

01.02.2019

