

## ОТЗЫВ

На автореферат диссертации Криворучко Анастасия Владимировна «Биофизические и молекулярные механизмы адгезии углеводородокисляющих родококков», представленной к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 - Микробиология, в диссертационный совет Д 999.219.02 на базе Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук и Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера

### Актуальность темы исследования.

Ухудшение экологической ситуации в природных экосистемах выдвигает необходимость расширения исследований особенностей микроорганизмов загрязненных сред, их биологического эффекта ответа на воздействие стрессорных факторов, поскольку в любой экосистеме, именно микроорганизмы первичная экологическая ниша реагирующая на возникающие неблагоприятные или потенциально опасные изменения в среде, инициирующие адаптивные реакции на самых ранних стадиях поступления ксенобиотиков в экосистему.

Особое место среди экстремотолерантных микроорганизмов занимают актинобактерии рода *Rhodococcus* Zopf 1891 (Approved Lists 1980) (домен "Bacteria", филум "Actinobacteria", класс *Actinobacteria*, порядок *Mycobacteriales*, семейство *Nocardiaceae*) (<https://lpsn.dsmz.de/>), обладающие способностью синтезировать компоненты клеток за счет газообразных и жидких *n*-алканов, обладающие высокой нейтрализующей активностью в отношении широкого спектра ксенобиотиков и участвующие в процессах естественного восстановления загрязненных экосистем. Высокая нейтрализующая активность в отношении широкого спектра ксенобиотиков обеспечивает огромный потенциал механизмов адаптации к их выживанию в неблагоприятных условиях окружающей среды.

Всё сказанное свидетельствует о широких возможностях их применения в современных экобиотехнологиях, включающих биоремедиацию, обезвреживание токсичных отходов, получение ценных химических соединений в промышленных масштабах и как следствие участвующих в процессах естественного восстановления загрязненных экосистем. В настоящее время число публикаций и новых научных разработок на основе *Rhodococcus* растет, но ряд нерешенных фундаментальных вопросов остаётся, в том числе вопросы связанные с раскрытием сложных механизмов адаптации родококков к условиям антропогенного загрязненных биотопов, более детальной расшифровкой их ответных реакций и сигнально-регуляторных путей, приводящих к

*адаптивным клеточным модификациям под воздействием экополютантов и других экзогенных вредных факторов.*

Известно, что основным механизмом адаптации бактерий к неблагоприятным условиям жизни является возможность их существования в прикрепленном образе жизни, сопровождающиеся образованием микробных агрегатов, флоков, гранул, биопленок, матов. Образую клеточные скопления бактерии формируют синергические сообщества, аккумулируют и активно используют питательные вещества, легко обмениваются сигнальными молекулами и генами, в результате чего оказываются более защищенными от воздействия стрессорных факторов.

Одним из важнейших фактором первичного контакта бактериальных клеток с поверхностью раздела фаз, сигналом к образованию биопленок, микробных гранул и флоков является адгезия, обуславливающая контакт патогенных и симбиотических бактерий с биотическими поверхностями, за счет специфических и неспецифических взаимодействий.

Существующие теории, описывающие физико-химические основы бактериальной адгезии, не всегда дают возможность спрогнозировать результаты адгезии, и требуют уточнения, дальнейшего изучения. До сих пор остаётся не изученным вопрос зависимости бактериальной адгезии от рельефа клеточной поверхности, хотя много работ посвящено изучению влияния рельефа подложки на эффективность адгезионного процесса. При наличии современных методов инструментального анализа (атомно-силовая микроскопия) не достаточно изучены цифровые значения силы адгезии бактерий и бактериальных адгезинов. Получение новых знаний о биофизических и молекулярно-клеточных механизмах адгезии и факторах, регулирующих данный процесс у родококков, позволят глубже понять причины высокой адаптации родококков к жестким условиям антропогенно нарушенных биотопов, а следовательно расширят спектр биокатализаторов среди прикрепленных родококков с высокой функциональной активностью. Единичны сведения об участии в адгезии продуцируемых многими бактериями биосурфактантов.

Всё выше сказанное свидетельствует об актуальности предствленного глубокого исследования механизмов адгезии актинобактерий рода *Rhodococcus* и оценки роли адгезии в формировании их общей приспособляемости к выживанию в естественных биотопах в условиях антропогенного загрязнения среды.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Обоснованность полученных результатов доказана достаточной репрезентативной группой исследованного массива свежесделанных и коллекционных штаммов *Rhodococcus* spp.. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подтверждены рациональным сочетанием проведенных лабораторных исследований, адекватностью использованных микробиологических и биохимических методов, а также широкого спектра использованных микроорганизмов и глубокой статистической обработкой полученных результатов, что позволило автору сформулировать научно - обоснованные выводы.

Выводы диссертационного исследования полностью соответствуют поставленным целям и задачам и вытекают из полученных результатов. Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Новизна исследования, значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов не вызывает сомнения, так как диссертантом впервые на основе комплексного систематизированного исследования адгезивных свойств актинобактерий рода *Rhodococcus*, проведена оценка роли адгезии в приспособлении родококков экологически значимых видов к изменяющимся условиям внешней среды. Используя массив свежесделанных и коллекционных штаммов *Rhodococcus* spp. автор экспериментально обосновал, что одним из основных механизмов, обеспечивающих биодegradацию углеводов родококками, является адгезия, которая является универсальной адаптивной реакцией родококков на повреждающее воздействие углеводов и их производных. Получены новые знания о биофизических, молекулярных и клеточных механизмах адгезии углеводородокисляющих родококков. Впервые показано, что в ответ на присутствие в среде жидких углеводов функцию адгезивных молекул, выполняют гликолипидные биосурфактанты, продуцируемые родококками. Установлена сила и важная роль адгезии *Rhodococcus*-биосурфактантов, выявлены особенности расположения молекул биосурфактантов на абиотических поверхностях в зависимости от их концентрации в среде. Новым является установление факта прямой зависимости адгезивной активности родококков от степени шероховатости (особенности рельефа поверхности) клеток.

Впервые показана локализация адгезинов липидной природы в специфических придаточных структурах, обнаруживаемых на поверхности клеток, и их определяющая роль в адгезии *Rhodococcus*. Выявлен совершенно новый клеточный механизм адгезии *Rhodococcus*, за счёт закрепления родококков с помощью характерных выростов клеточной стенки. Основываясь на полученных данных об изменениях температурных

показателей в процессе адгезии родококков, впервые разработан алгоритм количественной оценки бактериальной адгезии с использованием метода высокочувствительной инфракрасной термографии детекции тепла для регистрации адгезии .

Теоретическая и практическая значимость работы не вызывает сомнения, так как полученные результаты исследований расширяют представление о роли и степени влияния углеводов и их производных на способность родококков к адгезии. Получены новые данные о биофизических особенностях адгезии экологически значимых видов родококков. Расширены знания о молекулярных факторах, регулирующие адгезию родококков и установлена клеточная локализация молекул адгезии. Высокая практическая значимость представленного исследования заключается в разработке эффективного метода прямой количественной оценки бактериальной адгезии и получении работающего прототипа биокатализаторов на основе углеводородокисляющих родококков.

Содержание основных результатов диссертационного исследования «Биофизические и молекулярные механизмы адгезии углеводородокисляющих родококков», выполненного под руководством доктора биологических наук, профессора , академика РАН Ившиной Ирины Борисовны, является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, посвященной важнейшей для микробиологии задаче, исследованию механизмов адгезии актинобактерий рода *Rhodococcus* и оценки роли адгезии в формировании их общей приспособляемости к выживанию в естественных биотопах в условиях антропогенного загрязнения среды.

Представленная работа в полной мере соответствует критериям, которым должна отвечать диссертация на соискание ученых степеней п.9 «Положения о порядке присвоения ученых степеней, утвержденного постановлением правительства Р.Ф. №842 от 24.09.2013г. с изменениями, утвержденными в постановлении правительства РФ от 21.04.2016г. №335, от 02.08.2016г. №748, от 29.05.2017г. №650, от 28.08.2017г. №1024, от 01.10.2018г. №1168, а её автор Криворучко Анастасия Владимировна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 - Микробиология.

Доктор биологических наук  
(03.02.03-Микробиология), профессор,  
зав. каф. биологии Федерального  
государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего

образования «Оренбургский  
государственный медицинский  
университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

« 24 » ноября 2021г.

г.Оренбург, ул. Советская 6  
E-mail: gal.nik.solovix@mail.ru  
89128460323



Подпись доктора биологических наук,  
профессора, зав.каф.биологии  
Соловых Галины Николаевны заверяю  
Начальник отдела кадров  
/БердниковаЕ.Н./

/Соловых  
Галина Николаевна/

/